

الفيروسات والحشرات (Insect Virology)

تأليف

أ.د. صلاح الدين النجار

كلية الزراعة - جامعة القاهرة



مؤسسة كورس الدولية

مقدمة فى علاقة
الفيروسات و الحشرات
(Insect Virology)

تأليف
أ.د. صلاح الدين حسن النجار
كلية الزراعة - جامعة القاهرة

الطبعة الأولى

2011

مقدمه فى علاقة الفيروسات و الحشرات

هذا الكتاب يلقى الضوء على أحد أقدم العلاقات بين الكائنات الحية وهى علاقة الحشرات بالفيروسات. وعلى الرغم من قدم تلك العلاقة الحيوية بينهما إلا أنه لم تكتشف أبعادها إلا منذ نصف قرن , وعرفت بدقة تفاصيل هذه العلاقة منذ ربع قرن حينما تقدمت وسائل التكنولوجيا الحيوية للتعرف على الفيروسات على وجه التحديد.

ويقدم هذا الكتاب, ولأول مرة باللغة العربية, الإطار العام للعلاقات بين الحشرات و الفيروسات , وكيف تؤثر بالسلب أو الإيجاب فى حياة الإنسان و ثروته النباتية.

وقد أعد هذا الكتاب من أجل الدارسين و المهتمين بعلوم الحياه و علوم الربط بينها (Intersciences). ومن الجدير بالذكر أنه فى الوقت الذى ينتفع بالكتاب الدارس المتخصص، فإنه قد تم الأخذ فى الاعتبار التوضيح الكافى بلغة بسيطة، وليست فقط علمية، بحيث يسمح الكتاب لأى مثقف عام أن يستوعب المعلومات العلمية الواردة بالكتاب.

المؤلف

إسم الكتاب : مقدمة فى علاقة الفيروسات و الحشرات

المؤلف : أ.د. صلاح الدين حسن النجار

عدد الصفحات : 84 صفحة

الطبعة الأولى: 2011

جميع حقوق الطبع محفوظة للمؤلف. غير مسموح بطبع أى جزء من أجزاء هذا الكتاب أو
خزنة فى أى نظام لحزن المعلومات و استرجاعها ، أو نقلة على أية هيئة أو بآية وسيلة
سواء كانت إلكترونية أو شرائط مغنطة أو استنساخاً، أو غيرها إلا بإذن كتابى من المؤلف.

دار الكتب و الوثائق القومية :

رقم الإيداع: 8706 / 2010

مقدمة فى علاقة الفيروسات والحشرات

مقدمة

1

-1

الفيروسات

علم الفيروسات شأنه شأن علوم البيولوجي جميعا، أصبح إلى حد كبير في أيدي علماء الكيمياء. فالفيروس جزئي، بروتيني معقد له نشاط حيوي ممرض للكائنات النباتية و الحيوانية في البيئة. فما زال الفهم المبني لإيكولوجية (بيئة) الفيروس و موقعه في النظام البيولوجي العام هو المدخل الرئيسي لفهم كل ما يصل إليه العلم من إيضاحات عن النشاط المعقد للفيروس وأنماط وأنواع العوائل المتاحة له في البيئة ؛ ومن ثم تعظيم الاستفادة من تلك المعلومات في تناول و تداول الفيروسات و تحديد أهميتها الاقتصادية.

٦- ظاهرة الفيروس

الفيروسات في بيئة الإنسان تمثل قدرا من التنوع البيولوجي (Biodiversity) يفوق كل ما هو موجود من تنوع في البكتريا و النبات و المملكة الحيوانية كلها مجتمعة. و هذا في الواقع نتيجة لنجاح الفيروسات في التطفل على جميع الكائنات الحية المعروفة، وهذا التنوع الكبير بين الفيروسات هو المفتاح للتعرف على العلاقات المتداخلة بين الفيروسات و عوائلها المختلفة من الكائنات الحية. والفيروس كظاهرة في البيئة لوحظ من قديم الأزل على صورة ردود أفعال الإصابة به على العوائل . و قد فطن الإنسان القديم إلى الظواهر الفيروسية، بل وقام بمحاولات للتطعيم ضده في بعض الأحوال من أجل الحماية من الأمراض.

أول تسجيل لإصابة فيروسية مكتوب باللغة الهيروغليفية في مقفيس عاصمة مصر القديمة منذ سنة 1400 BC قبل الميلاد ، ويوضح رجل دين عليه علامات إكلينيكية لمرض شلل الأطفال. كذلك فإن مومياء رمسيس الخامس الذي مات في 1196 BC والمحفوزة بعناية في المتحف المصري ، فيها يحمل وجهه بثور الإصابة بالجذري. في سنة 1000 BC حدث في الصين إصابة وبائية بالجذري، و كرد فعل لهذا الوباء بدأت محاولات التطعيم (Vaccination). فقد لوحظ أن الأفراد الذين نجوا من وباء الجذري كانوا يتمتعون بعدم قابلية لتكرار الإصابة. و من هنا بدأ الصينيون يستخدمون عن طريق الاستنشاق مسحوق القرح الجافة عند المصابين بالمرض من أجل اكتساب صفة الحماية من الإصابة. ثم تطور الأمر إلى استخدام إفرازات القروح و تطعيمها من خلال خدوش في زراع الأطفال لحمايتهم ، وهذا التطعيم البدائي ظل يتداول لقرون عديدة إذ كان له بعض الفعل الإيجابي الواضح. ذلك بالرغم من نسبة الخطورة العالية في تلك الطريقة البدائية للتطعيم ، و التي قد

توفر نسبة من الإصابة المباشرة. و خلال عقود من المحاولات فإن التطعيم ضد الجدري خلال القرن التاسع عشر أصبح إجراء عالميا في صورته الحديثة و الأمانة. و تطورت دراسة الأمراض فيما بعد في 1880 بظهور العالمين Kock و Pasteur .

2- الفيروس يختلف تماما عن كل الكائنات الحية

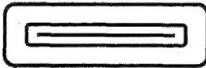
فالفيروس كائن تحت ميكروسكوبي و طفيل خلوي إجباري داخل الخلايا (Intracellular) . و قد يكفي هذا التحديد في أغلب حالات المقارنة ، إلا أنه مازالت كائنات تبدو مشابهة مثل Chlamydia, Rickettsia و هي من البكتيريا و طفيليات إجبارية و داخل الخلايا أيضا ، و تحتمل تواجدها خارج الخلايا لفترة قصيرة.

لذلك فإن تعريف الفيروس يجب أن يتضمن الحدود الصارمة الواضحة المميزة كالآتي:-

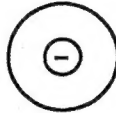
● جزئي الفيروس ينتج من تجميع لمكونات جاهزة، تصنعها خلايا المائل للفيروس بناء على توجيهات الفيروس. Assembly of Pre-formed component ولا ينمو الفيروس أو ينقسم. بينما الكائنات الأخرى تنمو من زيادة في الشكل النهائي المتكامل لعناصر تكوينها. وتتكاثر بالانقسام .

(Grow from an increase in the integrated sum of their components, and produce by division)

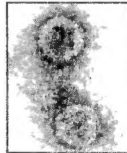
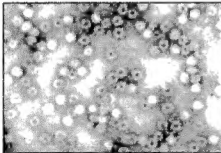
جزء فيروس مطاوع (قضيبي) الشكل



جزء فيروس كروي الشكل



غلاف بروتيني بداخله الحامض النووي إما DNA أو RNA





جزيء فيروس عصوي

جزيء فيروس خيطي

جزيء فيروس كروي

• الفيروسات تفتقر إلى المعلومات الوراثية

الفيروسات تفتقر إلى المعلومات الوراثية الخاصة بتكوين أجهزة أساسية لتوليد طاقة تحول غذائي أو تخليق بروتينات مثل ما يحدث في جميع الكائنات الحية. وليس هناك فيروسا له قدرة وراثية لإنتاج الطاقة اللازمة للعمليات الحيوية ، لذلك يعتمد الفيروس اعتماداً كاملاً على خلية العائل من أجل هذه الوظيفة.

3- هل الفيروس كائن حي؟

الأمر أصبح واضحاً الآن بأن الفيروس كائن حي ولكنه يختلف عن جميع الكائنات الحية.

تعقيدات جديدة

الغريب أن الدراسات الجزيئية (molecular)، أظهرت تعقيدات جديدة لمجموعة الفيروسات. إذ أن هناك عدداً من المسببات المرضية الجديدة التي تتشابه بوضوح مع الفيروسات مثل:-

*** Viroids** : عبارة عن RNA دائري صغير جداً (200-400 Nucleotides) معه تركيب ثانوي قضيبى الشكل ليس له غلاف (Capsid). ويرتبط ببعض الأمراض النباتية، ويتضاعف مثل الفيروسات.

*** Virusoids** : هو جزيء يشبه viroid وأكبر منه قليلاً (100 Nucleotides) وهو جزيء كامن Satellite يعتمد تماماً على تكاثر فيروس ما لكي يتكاثر هو نفسه. ويوجد الـ Virusoid داخل غلاف هذا الفيروس (Capsid) ليستخدمه كمركبه فقط.

*** Prion** : ويتكون من جزيء من نمط واحد وليس هناك أى تركيب من الحامض النووي. والغريب أن بروتين الـ Prion وكذلك الجين الذي يعبر عنه ، كلاهما يتواجد في الخلايا الطبيعية السليمة. وهذه الكائنات مرتبطة بأمراض بطيئة التطور مثل مرض جنون البقر.

ومن الملاحظ أن ظاهرة التشابه لبعض الـ genomes للفيروس مع genomes في خلايا كائنات أخرى تشير إلى أن العلاقة بين الفيروس و الكائنات الأخرى أكثر تعقيدا مما نتصور .

2- الحشرات



كما هو معروف فإن الحشرات مجموعة كبيرة من الكائنات الحية من ناحية الكم والتنوع، فإن ثلاثة أرباع المملكة الحيوانية (Animal Kingdom) من صف الحشرات (Class: Insecta) فالحشرات تتضمن أشكالا مورفولوجية وتركيبية متعددة وكذلك طبائع معيشية متنوعة. والحشرات قديمة التواجد على الأرض ، بحيث تشير الحفريات إلى قدم يصل إلى أكثر من 200 مليون سنة (في حين أن عمر الإنسان نفسه في صورته المميزة لم يصل إلى مليون سنة). كذلك فإن الصور المختلفة للأنواع الحشرية التي نراها في النظام البيولوجي الآن، هي في الواقع مراحل متقدمة جدا من تلك الكائنات التي مرت بعدد من صور التطور (Evolution) والتأقلم (Adaptation) في البيئة.

3- تطور دراسة الفيروسات وعلاقتها بالحشرات

من الطبيعي أن يبدأ الاهتمام بدراسة الفيروسات التي تسبب أمراضا للإنسان والحيوان والنبات . وهكذا يتطور الاهتمام بدراسة الفيروسات من وجهة النظر الاقتصادية المباشرة للإنسان وثروته الحيوانية والنباتية.

وفي هذا السياق فقد لوحظت العلاقة بين الفيروسات والحشرات من خلال التعرف على ناقلات حشرية (Insect Vectors) للفيروسات الممرضة للكائنات (نباتية أو حيوانية) التي يهتم بها الإنسان.

كذلك فقد لوحظت حالات مرضية فيروسية على بعض الحشرات التي يعتني الإنسان بتربيتها مثل نحل العسل ، وديدان الحرير. ومن هنا كان من البديهي أن يتوجه اهتمام الإنسان لدراسة تلك الفيروسات الممرضة للحشرات بغرض حماية تلك الحشرات النافعة. ثم تظهر فيروسات ممرضة

علي حشرات ضارة أي آفات (Pests). وبالضرورة تتطلب الدراسة في كيفية الاستفادة من تلك الظاهرة في مكافحة الآفات الحشرية المختلفة في البيئة، عن طريق تناول تلك الفيروسات بالإكثار في صور مستحضرات مبيدات الحشرات الضارة.

2 علاقة الفيروسات بالحشرات

ترتبط الحشرات بمجال واسع من فيروسات متنوعة ، والتي منها ما يسبب أمراضاً للحيوانات الفقارية و اللافقارية وأخري للنباتات. وبالرغم من أهمية العوامل الفقارية والنباتية من الناحية الاقتصادية، إلا أنها من الناحية البيئية وكفاءة تواجد الفيروس في البيئة، فإن تلك العوامل تعتبر عوائل ثانوية (Secondary hosts) ، وقد تكون عوائل بالصدفة ((Accidental hosts) ، وقد تكون عوائل لا توفر الدعم (Support) لتواجد الفيروس، فهي عوائل حساسة فانية (Dead end) بالنسبة للفيروس الذي يفضل عوائل أكثر تحملاً للإصابة بحيث تظل حية فترة طويلة تضمن للفيروس الأنسجة الحية اللازمة لبقائه نشطاً إلى حين يتوفر له عوائل أخرى. .

لذلك فإن الحشرات الناقلة للفيروس (Insect Vectors) تمثل العائل الأساسي (Primary host) الذي يوفر فترة طويلة من الدعم (Support) والانتشار للفيروس، خصوصاً إذا ما لم يكن للفيروس تأثيرات ممرضة علي الحشرة الناقلة، فتكون بمثابة مركبه (Vehicle) آمنة مناسبة لتلك الفيروسات في البيئة. .

وعلي سبيل المثال، فإن الأروفيروسات (Arboviruses) التي تصيب الحيوان و الإنسان و تتكاثر داخل ناقلاتها من حشرات الذباب، وكذلك الفيروسات التي تصيب النباتات والتي تتكاثر داخل ناقلاتها الحشرية من حشرات المن و نطاطات الأوراق، كل هذه المجموعات من الفيروسات يمكن أن يطلق عليها فيروسات حشرية، إذا ما اعتبرنا أن الحشرة الناقلة هي العائل الأساسي من وجهة اعتبارها أفضل فرصة للفيروس نفسه للبقاء نشطاً في البيئة. ومن ثم فإن كلا من الحيوانات الفقارية والنبات في تلك الحالة عوائل ثانوية الأهمية للفيروس نفسه بيد أنها عوائل أساسية من الوجهة الاقتصادية للإنسان. والحقيقة المشتركة بين تلك

الفيروسات هي كونها نادراً ما تسبب ضرراً ملحوظاً لعائلها الحشري (الأساسي) في حين يكون ضررها مهلكاً علي العائل الثانوي..وتلك الحقيقة تشير إلي جذور العلاقة بين الحشرات والفيروسات بحيث. أن تلك العوائل الثانوية

للفيروس (من فقايريات أو نباتات) ، هي غالبا عوائل حديثة العهد كطيرف ثالث في العلاقة إذا ما قورنت بالعلاقة الأساسية المباشرة بين الفيروس والحشرة والتي مازالت متمثلة في عددا كبيرا من الفيروسات التي تسبب أمراضا لعوائلها الحشرية ولا يبدو لها أي عوائل أخرى ظاهرة في البيئة. على حين أن العلاقة تأقلمت و تطورت و اكتسبت الفيروسات العوائل الثانوية من الحيوان أو النبات.

1- نشأة و تطور العلاقة بين الحشرات و الفيروسات

نظرا لتواجد الحشرات على الأرض مبكرا (200 مليون سنة) فمن المعتقد أنها اكتسبت الفيروسات المرتبطة بها مبكرا أيضا فالفيروسات أيضا قديمة التواجد من أكثر من 150 مليون سنة. و نظرا للتشابه المورفولوجي والكيميائي بين مجاميع الفيروسات بصرف النظر عن علاقتها بالحشرات. فإن ذلك فرض اعتقادا بأن جميع الفيروسات المرتبطة بالحشرات هي في الواقع من أصل واحد النشأة. وأقترح (Bawden, 1950) أن فيروسات النبات و التي تنقلها الحشرات كانت في نشأتها مرتبطة بالحشرات فقط و قد تمرضها أيضا. وأقترح (Andrew, 1957) أن الأروفيروسات التي تصيب الفقايريات كانت أيضا في نشأتها مرتبطة بالحشرات فقط و قد تمرضها. وعلى ذلك فإن هناك درجة من التأكيد بأن الفيروسات التي ترتبط بالحشرات ثم لها عوائل أخرى نباتية أو حيوانية ، كانت الحشرات هي عوائلها الأساسية في المنشأ. وهكذا خلال التطور (Evolution) فإن تلك الفيروسات اكتسبت تدريجيا عوائل أخرى متاحة في البيئة ، وملانة لانتشار الفيروس . وبذلك تأقلمت العلاقة بين الفيروس والحشرة لكي يستخدم الفيروس الحشرة العائل كنسائل (Vector) فقط ، و تظل أيضا هي العائل الأساسي كما سبق ذكره.

1- مظاهر تأكيد نشأة و تطور العلاقة بين الفيروسات و الحشرات

● كان يظن أن مرض الذرة المسمى (Maize wallaby ear MWE)) يتسبب عن فيروس لوحظت جزيئاته في نسج نبات الذرة. إلا أنه اتضح أن هذا الفيروس هو المسبب لمرض (LAV (leafhopper A virus التي تصاب به حشرات نطاطات الأوراق المرتبطة بنبات الذرة ، و ليس مسببا لمرض الذرة (MWE). ثم اتضح بالدراسة أن مرض الذرة ينتج عن إفرازات سامة (Toxins) خلال تغذية الحشرة و ليس سببه أي فيروس. و أن تواجد الفيروس (LAV) في نبات الذرة يجعل النبات ناقلا للفيروس من حشرة إلى أخرى. كذلك اتضح أن هذا الفيروس لا يتكاثر داخل النبات بل ينتقل بين أفراد الحشرة من خلال تغذية أفراد مصابة و أخرى سليمة على نفس

النبات. في حين أن الفيروس يتكاثر داخل الحشرة المصابة ، بل و ينتقل خلال بيض الحشرة من جيل إلى جيل(Transovarial transmission).

● هناك فيروس آخر يصيب حشرة من النجيليات *Rhopalosiphum padi* ويسمى (RP virus) و هو من نوع Reoviruses و تواجد هذا الفيروس في النباتات يشير إلى استخدام النبات كناقل بين أفراد الحشرة.

● كثير من الفيروسات النفاقية من نوع Reoviruses بدأت أصلا من الحشرات ، بدليل أنها تنتقل خلال بيض الحشرات (Transovarial) في حين لا تنتقل عن طريق بذور النبات. على الرغم من أنها تستخدم الحشرة كناقل Vector و النبات كمائل حساس (Susceptible host).

● و الحشرات أكثر ملائمة للفيروس، إذ أن الحشرة عائل يتحمل الإصابة (Tolerant) في أغلب الأحيان. مثلا فيروس موزيك الذرة (Maize Mosaic Virus (MMV) تتجمع جزيئات الفيروس في حشرة نطاط النبات الناقلة له، بصورة أقل كثيرا من تجمع جزيئات الفيروس الهائلة في أنسجة النبات. مما يشير إلى قدرة الفيروس على تنظيم معدل تكاثره داخل العائل الحشري الناقل للفيروس النباتي داخله ، مما يحافظ على الحشرة و من ثم يوفر ظروف مناسبة لانتشار الفيروس في البيئة بواسطة العائل الحشري الناقل، في حين يستخدم العائل الحساس لإكثار تعداد الفيروس.

2- موقع علم فيروسولوجيا الحشرات البيئي (Inter-science) في علم الفيروسولوجي

الفيروسات المرتبطة باللافقاريات Invertebrate virology القاسم الأعظم منها فيروسات الحشرات Insect virology ، حيث تحتل الحشرات النصيب الأعظم في فيروسولوجيا اللافقاريات سواء من حيث عدد الفيروسات المرتبطة بالحشرات أو تنوع العلاقة بين الفيروس و الحشرة . و ليس بغريب أن يظهر للحشرات أعداد لا نهائية من الفيروسات المرتبطة بها في علاقات مختلفة . و تتميز تلك الفيروسات بقدرتها على أن تجمع بين أنماط مختلفة من العوائل (Host types) (عوائل حيوانية و نباتية في نفس الوقت).

وبذلك تربط فيروسولوجيا الحشرات (Insect Virology) فروع علم الفيروسات (Virology) من فيروسولوجيا الفقاريات و فيروسولوجيا النبات . مما يؤدي إلى اتساع رقعة المهتمين بهذا العلم ، الذي كسر حاجز نمطية العوائل للفيروسات. إذ أن علم الفيروسولوجي كان ينقسم إلى قسمين متباعدين هما: فيروسولوجيا الحيوان (الفقارية و اللافقارية) والخاصة بنمط عوائل (Host type) حيوانية. و فيروسولوجيا النبات قاصراً على نمط عوائل (Host type) نباتية. إلا أن فيروسولوجيا الحشرات

(اللافقاريات) أوجد ظاهرة عبور الفيروس بين أنماط مختلفة من العوائل، فيما يسمى بالتعدد النمطي لعوائل الفيروس (Multi-type). وهكذا فإن فيرولوجيا الحشرات كشفت ظاهرة تعدد نمط العوائل للفيروس الواحد و قدرة الفيروس على اكتساب عوائل جديدة في البيئة.

2 - فيرولوجيا الحشرات و الإنتاج النباتي

إذا نظرنا إلى فيرولوجيا الحشرات من ناحية الاهتمام بالإنتاج النباتي فإنه يمكن تقسيم العلاقة بين الحشرات و الفيروسات إلى قسمين رئيسيين:-
القسم الأول: الحشرات كعائل وحيد للفيروسات.
القسم الثاني: الحشرات كناقلات للفيروسات التي تصيب النباتات.
وتشارك كل من الفيروسات التي تصيب الحشرات فقط ، وتلك التي تصيب النباتات و تنقلها الحشرات في المظاهر الأساسية الآتية:-

1- تسلك كل منها في الطبيعة طريقا واحدا إلى جسم الحشرة . فتدخل عن طريق الفم و القناة الهضمية ، ثم إلى دم الحشرة (Haemolymph) عن طريق النفاذ خلال غشاء القناة الهضمية الوسطى (midgut) . و قد تتكاثر الفيروسات النباتية داخل الناقل الحشري بدرجات متفاوتة ، كما أنها تتكاثر بشدة داخل النباتات.

2- العلاقة المؤكدة بين الحشرات و الفيروسات كانت قاصرة في الماضي فقط على تلك الفيروسات النباتية التي تتكاثر داخل الناقل الحشري ، على اعتبار أن الفيروسات التي تنقلها الحشرات بسرعة أي تكتسبها (acquisition) بسرعة وتفقد بسرعة، لا تشكل علاقة بيولوجية حقيقية. إلا أن وجود حالات التخصص المؤكدة بين الحشرات و الفيروسات في هذه الحالة قد أسقط تماما هذا التعميم . بل أن تلك العلاقة السريعة قد تكون مرحلة متقدمة و متطورة من العلاقة بين الحشرات و الفيروسات.

3- الفيروسات الممرضة للحشرات في طريقها الطبيعي للإصابة عن طريق القناة الهضمية للحشرة قد يصادفها مقاومة من القناة الهضمية التي على درجة من الكفاءة في صد أو التخلص من الأجسام الغريبة ، في حين أن الفيروسات الباقية التي تنقلها الحشرات تمر خلال القناة الهضمية للحشرة الناقلة بسلام ، و دون مقاومة ، و حتى بدون تكاثر؟

4- هناك علامة استفهام كبيرة أخرى على نظرية العوائل و مصدر الإصابة للحشرات بالفيروسات الممرضة لها في الطبيعة . فبالرغم من درجات التخصص بين الفيروسات و الحشرات أحيانا على مستوى النوع من الحشرة ، فهناك محاولات ناجحة لإحداث الإصابة بالفيروس عن طريق تعرض

الحشرات السليمة لمعاملات ببنية أو كيميائية خاصة فيما يسمى بنظرية الكمون (Latency) التي سيأتي ذكرها فيما بعد.

5- هل هناك عوائل أخرى للفيروسات غير ما نشاهده في البيئة ؟

يجب أن يكون هذا الاحتمال وارداً نظراً لتعدد إمكانيات الفيروس و تفاعله في البيئة. و من الأمثلة الصارخة الحديثة في العالم على عبور الفيروسات إلى أنماط جديدة من العوائل مثل فيروس الأنفلونزا الذي يعبر من الطيور إلى الإنسان و كذلك الذي يعبر من الخنزير إلى الإنسان.

لذلك فإن ما نراه في النظام البيولوجي من نطاق عوائل مختلفة سواء في النوع ((Species أوفي النمط (Type) ليس بالضرورة ممثلاً لكل العوائل الممكنة في البيئة، خصوصاً وأن الفيروس هو مهندس وراثي قديم (Genetic) engineer ، وقد يكتسب عوائل جديدة أو أنماط جديدة من العوائل في البيئة.

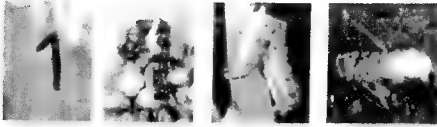
ثالثاً الحشرات كعائل مباشر ووحيد للفيروس

Insects as only hosts to viruses

كانت أول ملاحظة أو ذكر لتعرض الحشرات للإصابة المرضية بالفيروسات جاءت مكتوبة بواسطة أحد الشعراء Vida حينما تعرض إلى دودة الحرير و لاحظ فيما يبدو وباءاً مرضياً عليها لوصفه متسانلاً "The tainted air's corrupting streams or noxious food the latent poison hold فيما معناها: أهو هواء ملوث أو غذاء ملوث ؟ هذا الذي أظهر حالة التسمم القاتلة. و في الواقع أن تساؤل الشاعر جاء قريباً من الحقيقة إذ أن تلك الحالة المرضية هي ما عرف فيما بعد بفيروس البوليوبيروسيز، وتأتي الإصابة به من عوامل بقاء الفيروس في بيئة الحشرة بحيث يتلوث مصدر الغذاء ليرقات الحشرات.

1- طبيعة العلاقة بين الفيروس والحشرة

كانت البوليوبيدرا (Polyhedral inclusion bodies) (شكل:1) هي بداية الاهتمام بهذه الفيروسات ، فهذه الأجسام (الجزيئات البروتينية الغريبة) تظهر في الخلايا المصابة بالفيروس ومن السهولة التعرف عليها بواسطة الميكروسكوب الضوئي العادي . وكلمة Polyhedra تعني عديدة الأوجه (أي جزيئات ذات أوجه متعددة).



يرقات حرشات مصابة بفيروس البوليبيديرا

ولقد أخذت طبيعة العلاقة بين البوليبيديرا و المرض شوطا طويلا من الدراسة حتى قام Von Prowazk بترشيح مستخلص من يرقات مريضة ، و ذلك خلال طبقات عديدة من ورق الترشيح ، ثم وجد أن المرشح الخالي من البوليبيديرا ما زال يسبب إصابة للحرشة، و قد اُسِر ذلك بالتجربة عام 1924 ، حينما قام Komark & Breindl بإضافة قلوي ضعيف إلى مستخلص البوليبيديرا لفيروس النيكليوبوليبيديروسيز لدودة الحرير *Bombyx mori* NPV ولاحظ تكسير البوليبيديرا تحت الميكروسكوب الضوئي ، أما المستخلص الناتج فما زال يسبب المرض.

في سنة 1947 كرر Bergold نفس التجربة مستخدما الميكروسكوب الإلكتروني، و بالتالي استطاع أن يرى جزيئات الفيروس على شكل قضبان قصيرة (Rods) تركب في هيكل البوليبيديرا (شكل: 1)

في سنة 1926 اكتشف Paillot في يرقات أبى دقيق الكرنب *Pieris brassicae* جزيئات غريبة inclusion bodies تختلف عن المؤلف فقد لاحظ أعداد كبيرة من الجزيئات الحبيبية ، حبيبات (" granules ") الصغيرة التي يمكن رؤيتها بصعوبة بالحمسة الزيتية للميكروسكوب الضوئي. كما لاحظ Steinhouse سنة 1947 نفس الحبيبات في يرقات *Peridroma mangaritosa*. ثم قام Bergold سنة 1948 بعزل قضبان من الفيروس (Virus rods) من هذه الحبيبات وتعرف عليها بالميكروسكوب الإلكتروني، وتم إطلاق الاسم جرانولوسيز Granulosis على هذه الظاهرة ، كما سميت الحبيبات Capsules .

وقد كان Smith سنة 1950 أول من أوضح أن هناك نوعين من البوليبيديروسيز يختلفان جوهريا ، وذلك حينما وجد أن البوليبيديرا المصاحبة ليرقات *Arcta* spp المريضة، توجد بصفة خاصة في سيتوبلازم خلايا القناة الهضمية الوسطى، وجزيئات الفيروس في تلك البوليبيديرا ذات شكل كروي (Spherical) Isometric ، وعلى ذلك سميت بالميتوبوليبيديروسيز

(CPV) Cytoplasmic polyhedrosis virus) و الذي يختلف عن فيروس النيوكلويوليهيدروسيز (NPV) (nuclear polyhedrosis virus) ذو الشكل القضيبى (rod) و الذي يوجد في نواة الخلية.

2- مجموعات فيروسات الحشرات

توالت الإكتشافات لأنواع و أنماط أخرى من الفيروسات الممرضة للحشرات، فمنها ما هو يسمى بالفيروسات المغلفة ((Occluded) وأخرى غير مغلفة (Non- occluded) . وقد أشار (Tinsley & Lelly) سنة 1985 أن هناك على الأقل 11 مجموعة من الفيروسات التي تم عزلها من الحشرات . هذا وهناك أكثر من ذلك من الفيروسات التي لم يتم عزلها بعد، و ما زالت تنتظر الوصف و التعريف الدقيق ، حتى يمكن أن تتضمنها هذه القائمة . و من الجدير بالذكر أنه حتى الآن أقل من 2% فقط من الأنواع الحشرية المعروفة تم فحصها للبحث عن فيروسات . و هنا يجدر ملاحظة هامة جدا ، و هي أن الطرق التقليدية في عزل و تحضير الفيروس من الحشرات قد يكون لها أثرا في عزل فقط أنواع معينة من الفيروس دون أنواع أخرى و لذلك يجب أن يؤخذ في الاعتبار الأسباب الآتية:-

- المذيبات العضوية التي تستخدم في عمليات الفصل الأولية للفيروس هي في الواقع تقضى على أي فيروس يحتوى على دهون lipid في غلافه الخارجي.
- بعض أنواع الفيروسات قد تكون حساسة للقلويات بحيث لا تحمل عملية الفصل الأولية Initial separation .
- بعض الفيروسات يقلب عليها التجمع بحيث تتجمع الجزيئات في كتل (Aggregation) (و يمكن بسهولة أن تفقد في أول دورة للطرود المركزي على سرعات منخفضة) (Low speed Centrifugation) . و الوضع الأمثل في عزل الفيروس هو إتاحة نظام خلوي جاهزا بالمعمل للعزل المباشر للفيروسات من حشرات مريضة (cell system) والدراسات المتقدمة في مزارع الأنسجة (tissue culture) تبشر بالكثير من التقدم في عزل و تعريف الفيروسات ، و هذا يتوقف على نجاح زراعة النسيج (tissue culture)) والتي تختلف درجة نجاحه إختلافاً متبايناً في المعامل المختلفة ، و كذلك بين الأفراد وحتى من محاولة إلى أخرى بواسطة الفرد. ومازالت زراعة الأنسجة صعبة مكلفة إلى أن يمكن استخدام بيانات الأنسجة لمرات عديدة (Recycling) .

و فيما يلي أشهر المجموعات من الفيروسات الممرضة للحشرات، و صفاتها الأساسية الهامة اقتصاديا:

Family العائلة	Nucleic acid نوع الحامض النووي	Particle shape شكل الجزيء	Association with inclusion Bodies أجسام مصاحبة	Biochemical & Biophysical Similarities التشابه القريب مع فيروسات الفقاريات والنباتات	
				Vertebrates	Plants
Baculoviridae	DNA	Rod	+	-	-
Poxviridae	DNA	Ovoid	+	+	-
Reoviridae	RNA	Isometric	+	+	+
Iridoviridae	DNA	Isometric	-	+	-
Parvoviridae	DNA	Isometric	-	+	-
Caliciviridae	RNA	Isometric	-	+	-
Picornaviridae	RNA	Isometric	-	+	+
Rhabdoviridae	RNA	Bullet-shaped	-	+	+
Nodoviridae	RNA	Isometric	-	+	-

وفيما يلي التعريف ببعض الفيروسات الحشرية الشائعة: وهي تلغ تحت مجموعتين رئيسيتين:-

2-1- الفيروسات المغلفة *Occluded viruses*

وهي الفيروسات التي تتميز بتواجد أجسام بروتينية مصاحبة (inclusion bodies) تتركز بداخلها جزيئات الفيروس ومنها:-

2-1-1- فيروسات النيوكليويوليهيدروسيز NPV شكل (1)

جزيء الفيروس عصوي قضبي الشكل rod-shaped طوله 250-300 nm، عرضه 60-50 nm (nanometer) (1/1000 micron) و الشفرة الوراثية (genome)

تحتوى على الحامض النووي DNA. وتتواجد جزيئات الفيروس بالمئات داخل كل جزيء من الغلاف البروتيني المسمى بالبوليهيدرا (Polyhedra inclusion body). وفيروسات NPV كما يتضح من التسمية تتكاثر في نواة خلية العائل. و يغزو الفيروس أنسجة الجسم الدهني والجلد epidermis و خلايا الدم، و القصبات الهوائية و نلرا غدد الحرير، و أحيانا يغزو القناة الهضمية الوسطى كما في يرقات حشرات *Plusia chalyotes*، و *Bombyx mori*.

2-1-2- فيروسات الميتهيويليهيدروسيز CPV

جزيء الفيروس كروي الشكل (Spherical) (isometric)، و يحمل على سطحه الخارجي بروتات - جزيء الفيروس يتراوح قطره 60-70 nm. و يحتوى على الحامض النووي RNA. وتوجد جزيئات الفيروس بالآلاف داخل جزيء الغلاف من البوليهيدرا الواحدة، وتتكاثر فيروسات CPV كما يتضح من التسمية في الميتهوبلازم و تغزو بصفة خاصة أنسجة القناة الهضمية الوسطى للعائل، ثم جميع أنسجة يرقة الحشرة المصابة.

2-3-1- خصائص البوليهيدرا شكل (1)

- جزيئات بروتينية تختلف في الشكل و الحجم حسب نوع الفيروس، بل قد تختلف إلى حد ما في نوع الفيروس الواحد، بينما تكون أكثر تجانسا في الخلية الواحدة. الجزيء متعدد الأوجه يتراوح في الشكل من شكل غير منتظم الأوجه إلى شكل ذو أربع أوجه Tetrahedron أو ستة أوجه Hexahedron أو ذو 12 وجه Dodecahedron.

- يتراوح حجم البوليهيدرا من ½ إلى 15 ميكرون حسب نوع الفيروس. و يتحكم في شكل البوليهيدرا نوع الفيروس و ليس خلية العائل. و قد يكون للشكل و الحجم علاقة تكشف عن سلالات من الفيروس، بحيث يمكن عزل شكل ما عن طريق انتخابه و حقنه في عائل سليم للحصول على عذلة أو سلالة. و للسلاطات أهمية في دراسات العدوى المتبادلة و التداخل بين الفيروسات. ومن الجدير بالذكر أن عامل الوراثة هو المتحكم في الأشكال و السلالات.

- البوليهيدرا لا تذوب في الماء أو الكحول و على درجة من المقاومة لفعل الإنزيمات. إلا أنها بمجرد تعرضها لقلوي ضعيف، فإنها تتكسر أو تتحرر منها جزيئات الفيروس. ففي حالة NPV تتكسر البوليهيدرا و تخرج منها الفيروسات أما في حالة CPV فتتحرر الفيروسات تاركة هيكل البوليهيدرا يظهر به ثوب مستديرة هي مكان جزيئات الفيروس التي تحررت.

- بوليهيدرا CPV أكثر مقاومة للقلويات الضعيفة عن بوليهيدرا الـ NPV، كما أن الأولى تأخذ أشكالا أكثر تنوعا عن الأخيرة، فيظهر فيها المستدير و المعين. و تأخذ بوليهيدرا الـ CPV

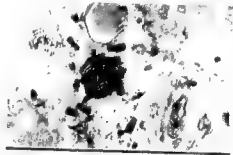
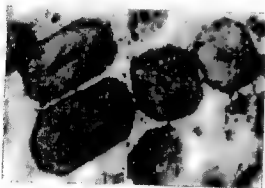
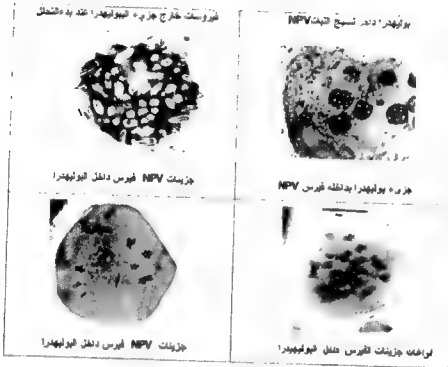
الصبغة بالجمسا (Giemsa's) بينما لا تأخذها بوليبيديرا ال-NPV ، في حين أن كلاهما يأخذ الصبغة بأسود النفتالين Naphthalene black و ذلك اختبار معلمي سريع للتفرقة بينهما بالفحص بالميكروسكوب الضوئي.

2-1-4- فيروسات الجرانبولوسيز (GV)

جزيء الفيروس عصوي قضبي الشكل (rod-shaped) ، طوله حوالي 210-260 nm و عرضه 33-30 nm ، و يحتوى على الحامض النووي DNA. و يوجد كل جزيء من الفيروس داخل حبيبة "granule" يبلغ قطرها 300-400 nm . و في حالات نادرة تحتوى الكبسولة الواحدة على عدد قد يصل إلى 9 فيروسات جزيئات فيروسية و الشائع هو تواجد جزيء واحد من الفيروس داخل الكبسولة الواحدة ، والكابسول لا يذوب في الماء أو الكحول ، و يقاوم فعل الإنزيمات ، و لكنه يذوب بسهولة في القلوي الضعيف.

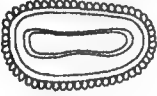



و فيروسات الجرانبولوسيز توجد في النواة لخلية العائل أو الميتوبلازم أو كلاهما حسب نوع الفيروس فمثلا فيروس حشرة أبو دقيق الكرنب *GV Pieris brassicae* يوجد في النواة ، بينما فيروس حشرة *GV Natada narraria* يتواجد في الميتوبلازم للخلايا المصابة . أما في حالة فيروس حشرة *GV Christoneura sp* فيتواجد في كل من الميتوبلازم والنواة في نفس الوقت و يفزو الـ GV الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى ، و الجسم الدهنى ، و أحيانا القصبات الهوائية و الجلد.

شكل 1:



فيروس الجراثيمولوسيز (كيسولة granule بداخلها جزء فيروس قضيبي الشكل)

شكل 2:

Viruses Infecting Invertebrates فيروسات تصيب الحشرات	
فيروسات مغلقة OCCLUDED ds DNA  Entomobovirus	فيروسات غير مغلقة NON OCCLUDED ds DNA  Iridovirus الفيروسات القرصية
ds DNA  Baculovirus	ssDNA  Picornovirus

5-1-2- فيروسات البوكس الحشرية: Entomopox viruses (شكل: 2)

اكتشفها (Vago 1963) في حشرات من غمدية الأجنحة Coleoptera ، ومستقيمة الأجنحة Orthoptera وحرشفية الأجنحة Lepidoptera، و ذات الجناحين Diptera. جزيئات الفيروس كبيرة الحجم، تأخذ شكلاً بيضاوياً (Oval أو مكعب (Brick)). وقد يظهر بروزات على الغلاف الخارجي، تعطى لجزء الفيروس شكل يشبه ثمرة الفراولة. ويحتوي الجزء على جسم مركزي غير منتظم الشكل يظهر في صور مختلفة حسب نوع الفيروس. ويتكون هذا الجزء من طبقات و بداخله تركيب خطي مرن ملتف في ثنيات و حلقات. وتختلف تلك الفيروسات في أحجامها حسب نوع الفيروس فأصغرها ذو حجم nm230 X 320 وتصيب حشرات Diptera ، و أكبرها nm 250 X 400 وتصيب حشرات Orthoptera . و الحامض النووي من نوع

DNA ، و تتكاثر في سيتوبلازم خلايا الجسم الدهنى و خلايا الدم. و تطف تلك الفيروسات بغلاف بروتينى كبير ، و مستدير يسمى بالكريات (Spherules)، و تظهر جزيئات الفيروس داخل تلك الأجسام المصاحبة (inclusion bodies). I.B.) بترتيب مميز لكل نوع من الفيروس. و يبلغ حجم الكرية Spherule من 10-20 ميكرون. و الخلايا المصابة بتلك الفيروسات أيضا ينتج فيها أجسام أخرى (I.B.) مصاحبة للفيروس ، و ذات شكل مغزلي Spindle-shaped bodies ، و تبلغ من 5-10 ميكرون. و من الجدير بالذكر أن البروتين الذي تتكون منه يختلف عن كل من بروتين الكريات (Spherules) و بروتين الفيروس نفسه ، مما لا يؤكد وحدة النشأة.

2-2- الفيروسات غير المغلفة Non-Occluded viruses (شكل: 3)

و هي فيروسات حرة لا يصاحبها أغلفة خارجية يرقد بداخلها الفيروس كما الحال السابق الذكر، مثال:

2-2-1- الفيروسات القزحية (Iridescent viruses)

وجزيء الفيروس كبير الحجم حوالي 130nm، و يتميز بأنه ذو عشرون وجه Icosahedral ، و الحامض النووي DNA و يتكاثر في السيتوبلازم ، و تغزو بصفة خاصة خلايا الجسم الدهنى ، ثم تنتشر في جسم الحشرة بكميات كبيرة تصل إلى 25% من الوزن الجاف للحشرة.

2-2-2- مجاميع الفيروسات الكروية الصغيرة

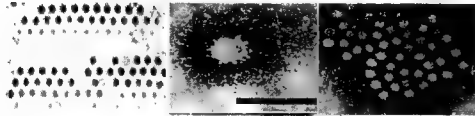
Parvoviruses (Densoviruses)

وجزيء الفيروس كروي صغير يتراوح من 18-22 nm، و يتميز بأنه عديد الأوجه Icosahedral ، و تظهر الجزيئات في الأنسجة بترتيب متناسق (symmetrical) (الحامض النووي DNA . و تغزو جميع الأنسجة و تتكاثر في نواة الخلية.

شكل: (3) : الفيروسات غير المغلفة

فيروسات كروية صغيرة

فيروسات قزحية



3 - وصول الفيروس للعائل

يصل الفيروس لعائلته الحشري في الطبيعة بطريقتين:-

3-1- عن طريق الفم Ingestion

وهو الطريق الرئيسي لوصول الفيروس للحشرة من أجل بدء الإصابة . و يحدث ذلك نتيجة تلوث غذاء الحشرة في الطبيعة بلقاح من الفيروس. و المصدر الأساسي للقاح الفيروس في الطبيعة هي الحشرات المصابة بالفيروس في بيئة الحشرة و التي ينفجر جسمها لتخرج منه كمية كبيرة من جزيئات الفيروس منتشرة على مسطح النباتات وتصبح مصدرا للعدوى . و من الجدير بالذكر أن العوامل البيئية تلعب دورا في تواجد الفيروس في صورة فعالة (active) في بيئة الحشرة. إذ أن فترة بقاء الفيروس فعالا في الطبيعة هي محصلة درجة ثبات الفيروس تحت الظروف المعاكسة مثل أشعة الشمس ودرجات الـ pH و خلافة.

3-2- الانتقال عن طريق البيض transmission Transovarial

ويعنى انتقال الفيروس إلى الجيل التالي للحشرة عن طريق البيض (Transovarial) و قد لوحظت تلك الظاهرة أولا في الفيروسات القزحية (iridescent) أن اليرقات من حشرات (الذباب) ذات الجناحين (Diptera) التي تتعرض للفيروس في الأعمار الصغيرة حتى العمر الثالث غالبا ما تموت. أما إذا ما تعرضت اليرقات الكبيرة العمر فيمكن أن تهرب من الإصابة في طور اليرقى

و تدخل في طور العذراء و تخرج الحشرة الكاملة و تضع بيضا ثم تخرج منه يرقات تظهر عليها الحالة المرضية.

كذلك فقد أشارت بعض الدراسات إلى حدوث الظاهرة (الانتقال عن طريق البيض) في بعض حالات الإصابة لحشرات حشرية الأجنحة (Lepidoptera) بفيروسات NPV، و أيضا بفيروسات GV، و أشهرها حالة حشرة أبو دقيق الكرنب *Pieris brassicae* GV و التي تهرب فيها اليرقات من الإصابة في حالة المعاملة بجرعات منخفضة sub-lethal doses من الفيروس ليست كافية لإحداث الإصابة . و ينتقل الفيروس داخليا من خلال البيض أثناء تكوينه إلى اليرقات حديثة الفقس. و الجدير بالذكر أن تلك الصورة من الانتقال للفيروس عن طريق البيض داخليا ليست مؤكدة .

3-3- الانتقال خارجياً عن طريق البيض Transovum transmission:

هناك من الدراسات ما يؤكد ، خصوصاً في حالات الـ NPV أن الانتقال عن طريق البيض هو مجرد انتقال خارجي (External) أي مجرد تلوث خارجي لسطح البيض نتيجة التلوث الخارجي لجسم الحشرات الكاملة سواء كانت إناثاً أو ذكوراً من جراء التعرض للسطوح النباتية الملوثة بالفيروس ، و عليه تتعرض اليرقات حديثة الفقس لهذا التلوث نتيجة التغذية. و يتم الانتقال عن طريق البيض في هذه الحالة خارجياً (Transovum) .

ولا يزال الـ Transovum هو التفسير المقبول لأغلب حالات انتقال الفيروس عن طريق بيض العائل الحشري. (على الرغم أنه في عام 1996 جاءت دلائل تجريبية لحالة من Transovarial إلا أنها ذكرت لحالة واحدة لم يتكرر ذكرها ثانية، مما يجعلها غير مؤكدة) وعلى ذلك فإن وصول الفيروس للعائل هو في جميع الأحوال عن طريق الفم و نتيجة لتغذية العائل على الفيروس المتاح خارجياً على سطوح ملوثة به.

تمرين

صمم اختباراً لانتقال فيروس NPV خلال البيض للحشرة العائل مستخدماً مستحضر من الفيروس ، و مزرعة من الحشرة خالية من الإصابة – يمكن استخدام بخار الفورمالدهيد 10% كوسيلة للتعقيم الخارجي للبيض ضد التلوث الخارجي بالفيروس.

4 - مصير الفيروس المغلف داخل العائل

بمجرد تعرض أجسام البوليبيديرا المصابة للفيروس (Polyhedra inclusion bodies) لقوى ضعيف، يتكسر الغلاف البروتيني أو تخرج منه الفيروسات حرة. و لهذا فبمجرد دخول البوليبيديرا معدة الحشرة فهي تتعرض للقوة اللازمة لتحرير الفيروس و بدء الإصابة. هذا بجانب احتمال تعرض الفيروس لإنزيمات. وغالباً ما يقاوم الفيروس ذات الأثر المثبط على الفيروس الحر. و لذلك كان من الضروري لكثير من الفيروسات أن تبدأ في غزو الأنسجة بسرعة حتى تنجح الإصابة. ولقرب الخلايا هي خلايا القناة الهضمية . وهذا ما كان يلاحظ فعلاً في حالة فيروسات السيتربوليهيدروسيز. وكان الاعتقاد السائد أن جميع فيروسات النيكلويوليهيدروسيز لا تتكاثر في أنسجة القناة الهضمية ، بالرغم من أن الإصابة بها تتم عن طريق الفم و القناة الهضمية. إلا أنه سنة وجد تكاثر لفيروس من نوع الـ NPV في أنسجة القناة الهضمية الوسطى حيث شوهد الفيروس بكثرة و لكن بدون أغلفة (بالرغم من ملاحظة أجزاء من الأغلفة) و ذلك في النواة للخلايا المتراصة في

القناة الهضمية. و قد كان يستحيل ملاحظة ذلك بالميكروسكوب الضوئي. و من هنا وضع أن خلايا القناة الوسطى mid gut هي في الواقع أول نسيج يغزو الفيروس في جسم الحشرة .
ومن الجدير بالذكر أن عدم تكوين البوليهدرا الكاملة في خلايا القناة الهضمية في حالة الـ NPV قد يقلل من إنتاج البوليهدرا الناتجة بعد موت العائل ، أما تكوين جزيئات البوليهدرا الكاملة في حالة الـ CPV فيزيد من إنتاج جزيئات بوليهدرا فعالة تنتشر فيما بعد موت العائل. و هذا يفسر تفوق إنتاج الأجسام المصاحبة المحتوية على الفيروس في حالة السيئوبوليهدروسيز عنه في النيوكليوبوليهدروسيز.

5- الإصابة الكامنة (غير الظاهرة) بالفيروس: Latent viral infection

و يقصد بها ظهور حالات من الإصابة بالفيروس على حشرات سليمة أو لم تتعرض ظاهريا إلى هذا الفيروس. و الظاهرة "Latency" " عموما تلاحظ في جميع الكائنات الحية من البكتريا إلى الإنسان ، و تبدو أكثر وضوحا في الحشرات. و تظهر الإصابة الكامنة في صورتين أساسيتين:-

- ظهور إصابة بالفيروس على حشرات سليمة نتيجة تعرضها لمؤثرات معينة stressors مثل: التزاحم - درجات الحرارة العالية- المعاملة بأشعة إكس أو المعاملة بالكيماويات خاصة مواد الاختزال مثل (EDTA أو Sodium azide) و قد لوحظت الظاهرة في بعض يرقات Lepidoptera. و فيها اعتبر الفيروس كامنا في صورة ما . و لا يزال تلك الكومن غامضا سواء في طبيعته أو آليات تنشيط الفيروس الكامن و ظهوره فيما بعد.

- الملاحظة المستمرة لجزيئات شبيهة بالفيروس (بأعداد قليلة) virus-like particles في أنسجة حشرات سليمة بالرغم من عدم تعرضها لأي مسبب أو ظهور أي إصابة. و تلاحظ تلك الظاهرة مثلا في حشرات المن و نطاطات الأوراق و الدوروسوفيل. فبالرغم من ظهور تلك الجزيئات الشبيهة بالفيروسات إلا أن أهميتها ما زالت تنتظر الدراسة.

5-1- تفسير ظاهرة الإصابة الكامنة (غير الظاهرة):

5-1-1- يعتقد البعض أن تلك الظاهرة لا تتعد مجرد تلوث بالفيروس يحدث بطريقة ما تحت ظروف معينة ، خصوصا في المعمل ، فكثيرا ما تفشل تربية حشرة ما في المعمل نتيجة ما يعزى إلى الإصابة للكامنة. إلا أنه قد يمكن في أغلب الأحيان التغلب على تلك الصعوبة بإجراء تعقيمت خاصة

للحشرة و أدوات التربية بجانب الأساليب الوقائية، بحيث أمكن تقليل أو تلافي حدوث الموت . إلا أن عدم حدوث الموت ليس دليلا كافيا على عدم وجود الفيروس.

5-1-2- لذلك يعتقد البعض في وجود ظاهرة الكمون، و الإعتقاد هنا أن الكائنات الحية المختلفة بما فيها الحشرات تحمل المكونات اللازمة لتكوين الفيروس الخاص بها على الكروموزومات (the necessary components for virus formations) ، و مازالت المحاولات مستمرة لتفسيرها ، و هناك محاولات ناجحة لإظهار الإصابة الكامنة عن طريق معاملات خاصة مثل (stressors):-

* المعاملة بالـ EDTA يمكن أن يظهر حالات بالـ NPV على يرقات ديدان الحرير .
* تظهر بانتظام حالات من الـ CPV في يرقات ديدان الحرير ، كذلك الحال في يرقات الـ *Heliothis* ، وذلك مصاحبة للإصابة بـ NPV.

* في تجارب العدوى المتبادلة (Cross infection) أمكن بالمعاملة بالفيروس الغريب (virus Heterologous) أن تظهر الإصابة الكامنة بالفيروس المتخصص لحشرة ما (Homologous virus) . و قد فسر ذلك على أساس أن الفيروس الغريب يعمل كحافز (Stressor) كما تعمل بعض الكيماويات.

* بل أن هناك حالة أمكن فيها استعمال فيروس نباتي (TMV) لتحفيز الإصابة الكامنة
* لوحظ ظهور فيروس السيتوبوليهيدروسيز (CPV) في خلايا مزروعة من ورقة حشرة *Antheraea eucalypti* حينما أضيفت للمزرعة جزيئات فيروس النيوكليوبوليهيدروسيز (NPV).
ومن الجدير بالذكر أن هناك كمون (حالة من الكمون) لهذه الفيروسات ، و تخرج منها تحت ظروف تنشيطية مختلفة كما سبق ذكره.

وقد وضعت نظرية الكمون (Latency) تفسيرات كلها تعتمد على عنصر التنشيط الذي يتم بالكيماويات أو الغلاف البروتيني (غلاف البوليبيدرا).

وهناك دلالات حديثة من خلال تكتيك البيولوجيا الجزيئية ، بأن الحامض النووي للفيروس يتواجد في جميع أطوار الحياة للحشرات التي تبدو سليمة تماما. لذلك فهو ينتقل تلقائيا من جيل إلى آخر و هناك نظرية قديمة تفسر أن الكائنات المختلفة تحمل المكونات اللازمة لتكوين الفيروس على الكروموزومات.

وتفسر هذه النظرية أن الفيروس ينظم تواجد عائلته (من أجل البقاء). و على ذلك فإن درجة الـ (latency) التي تبدأ في الظهور تعتمد على إستراتيجية الفيروس في تنظيم العائل ، فيظهر أو يكمن الفيروس ، وقد تتدخل عوامل أخرى خارجية في هذا التنظيم عن طريق أثر هذه العوامل ، في تغيير تعداد الحشرة العائل مثلا. وهذا قد يفسر أيضاً حالات الإصابة المزمنة ببعض الفيروسات و التي لاتؤدي إلى الموت السريع للعائل.

6- التداخل Interference

ويقصد به التداخل بين الفيروسات المختلفة داخل نسيج العائل في حالة الإصابة المشتركة (mixed infection) وهي الظاهرة التي تبحث فيما يحدث إذا تعرض العائل لأكثر من فيروس واحد في آن واحد. وما يحدث حينما يتواجد فيروسان مختلفان داخل الحشرة فتتوقف النتيجة على ما إذا كان هناك منافسة بينهما على نسيج معين أو أن كلاهما يمكنه التكاثف في نسيج منفصل. وهنا يجر الإشارة إلى أن التداخل بين فيروسات الذبابة ناله قسطاً أكبر من الدراسة فهناك ظواهر ثابتة لحالات من الحماية المتبادلة (cross protection)، والتشبيط ((synergism) وحالات المساعدة للفيروس المعتمد (Dependent & helper virus) وكذلك حالات (الخطأ المظهري) التغليف المتبادل Heterologous encapsidation ومع ذلك فهالنسبة لفيروسات الحشرات تشير بعض الدراسات إلى حالات مشابهة لذلك مثل:

* الحماية المتبادلة أو السلالات المنافسة **Challenge virus** : فعند إستعمال سلالتين من الـ CPV أحدهما تتميز فيها البوليبيدرا بالشكل ذو العشرين وجه icosahedra والأخرى ذو الستة أوجه hexahedral ، وجد أنه كلما كانت أحد السلالات أكبر من حيث الجرعة زادت نسبة الإصابة بها عن السلالة المنافسة (Challenge virus)) إذا ما تعرض العائل لكلا السلالتين معاً. و المقصود بالحماية المتبادلة هنا أن أحد الفيروسين أو السلالتين تنجح في الإصابة ثم تحمي العائل من الإصابة بالفيروس الآخر أو السلالة الأخرى.

6-1 العوامل التي تؤثر في التداخل بين الفيروسات في عوائلها من الحشرات

- العوامل البيئية: مثل درجات الحرارة وأثرها المباشر على الأنواع المختلفة من الفيروسات وغير المباشر على العائل و درجة حساسيته .
- نوع العائل: وحساسيته لكل فيروس وعمر الطور اليرقي وبالتالي درجات الملاءمة.
- الجرعة: من كل فيروس التي يتعرض لها العائل.

- تتابع دخول: الفيروسات في جسم العائل وتظهر أهمية هذا العامل في توفير الأولوية لدخول أحد الفيروسات والتي قد تعطى ميزات من حيث سرعة التكاثُر خصوصاً في حالة المنافسة على نفس النسيج للتكاثر.

7- التخصص بين العائل والفيروس Host-specificity

التخصص هو التوافق بين نوع الفيروس، والعائل الحشري والذي يسمح للفيروس بإصابة خلايا العائل أو عدم أصابتها (إما توافق أو عدم توافق).
ويحدد التخصص درجة من التوافق للفيروسات مع عوائلها من الحشرات، والتخصص لذلك من العوامل المحددة لدراسة وبائية الأمراض في البيئة.
ويحدد المدى العوائل (Host range) للفيروس عن طريق اختبارات العدوى المتبادلة بشرط التأكد من:

- نوع الفيروس المسبب للعدوى ومطابقته للفيروس المستخدم في الاختبار.
 - نقاء الفيروس المستخدم في الاختبار، حتى لا يكون هناك أي تلوث ولو ضئيل من فيروس آخر
 - الأخذ في الاعتبار الإصابة الكامنة Latency .
- ويرتبط التخصص بالموضع التقسيمي للعائل الحشري كالآتي:-

7-1- تفصيص على مستوى الرتبة الحشرية (Insects orders)

يتمثل في قدرة نوع من الفيروسات في إصابة أنواع حشرية تابعة إلى أكثر من رتبة حشرية. وهذه ظاهرة تكاد تكون قليلة الحدوث مثل الفيروس القزحي (IV) لحشرة (Gypsy moth) وهي من حرسفية الأجنحة ، ويصيب الفيروس جنسين من Neuroptera (شبكة الأجنحة). كذلك بالنسبة لفيروس السيتوبوليهيدروسيز *Vanessa io* CPV والذي يصيب أيضاً نوعين من حشرات Neuroptera . كذلك فيروس القبيولا القزحي (TIV) *Tipula iridescent* له عوائل من رتبة حشرية متعددة.

7-2- تخصص على مستوى العائلة الحشرية (Insects families)

وفيه تنحصر العوائل في إطار عدد محدود من العائلات الحشرية أو عائلة واحدة مثل فيروسات النيوكليوبوليهيدروسيز *Antosreph colifomier* NPV., *Galleria mellonella* NPV والأخير له عوائل كثيرة من عائلة *Noctuidae* و *Pyralidae* الحشرية.

3-7- التخصص على مستوى الأنواع الحشرية (Insects species)

وفيها للفيروس عوائل محدودة في نطاق العائلة الواحدة وغالبا الجنس الواحد. وفي جميع الأحوال يختلف درجة الحساسية باختلاف العوائل فيكون أحدهما أكثرها حساسية مثلا. و هو غالبا ما يكون العائل الشائع للفيروس أو المعزول منه الفيروس.

مثل فيروسات الجرانيلوسيز (GV) : *Pieris brassicae* GV وفيروسات النيوكليوبوليهيدروسيز (NPV) مثل (NPV) فيروس الدودة القارضة و *A. segetum* GV له عوائل من 17 نوع من الحشرات التابعة لعائلة Noctuidae في حين يصيب *H. zea* NPV (الأنواع التابعة للجنس *genus*) فقط (*Heliothis zea* SNPV).

ويصل التخصص في كثير من الحالات إلى مستوى النوع الواحد ولكن ذلك يستلزم الاختبارات المكثفة قبل الوصول إلى هذا التحديد.

وتعتبر فيروسات GV أكثر الفيروسات الحشرية تخصصا حيث تقتصر الإصابة في الأنواع على مستوى الجنس الحشرى إلى ذلك مجموعة فيروسات التنيوكلنيوبوليهيدروسيز المغلفة فرديا (Singly embedded) بلها المغلفة في أعداد (multiple embedded) أما الفيروسات غير المغلفة فأقل الأنواع في التخصص.

4-7- تخصص السلالات داخل الفيروس الواحد

وهذا يعتبر درجة من التخصص النسبي أي أن تظهر سلالة أكثر فعالية من سلالة أخرى داخل الفيروس الواحد وعلى نفس العائل. وهذا وارد في جميع الفيروسات (نظريا) علاوة على أن الارتداد وارد أيضا وقد ساعد كثيرا التقدم الحديث في تعريف وتحديد الفيروسات سواء بالطرق الميكروبيولوجية أو البيولوجية الجزيئية - ساعد في تحديد درجات التخصص في صورة دقيقة.

والتخصص للفيروس على العائل يحدد ما إذا كان عائلا أم لا أما الحساسية فهي درجة رد فعل العائل للإصابة بحيث يتوفر علاقة مضطربة بين درجة الإصابة والموت و جرعة الفيروس فيما يسمى Dose mortality response.

و مقاومة العائل للإصابة هي غالبا إنتخابا لسلالة من العائل أقل درجة في الحساسية. و من الوارد أن ترد السلالة إلى حساسيتها الأولى للفيروس، أما المناعة إذا حدثت فهي أقصى درجات المقاومة للإصابة بالفيروس .

8- حساسية العائل الحشري للفيروس

Susceptibility to virus infection

درجة حساسية الحشرات للفيروس ليست بالوضوح الكافي الذي يعطى مظاهر الاختلاف في الحساسية سواء باختلاف النوع الحشري أو اختلاف الأطوار المختلفة في النوع الواحد. إلا أنه من المؤكد أيضا أن تواجد ودرجة سمك غشاء غلاف الغذاء (Pre-trophic membrane) في القناة الهضمية يلعب دورا فاعلا في مقاومة أو تسهيل غزو الفيروس و من ثم درجة الإصابة و الحساسية. هذا علاوة على الظواهر الآتية:

8-1- الطور البرقي في الحشرات يبدو أكثر الأطوار حساسية لفيروسات NPV مثلا وقد فشلت محاولات إصابة طور العذراء في الحشرة عن طريق حقن الفيروس في الدم إلا أن نجاح الإصابة التي تؤدي إلى موت العذارى لم يحدث إلا في حالات الحقن بتركيزات عالية من الفيروس ومع ذلك فإن عدم ثبات نمب قياسية للعلاقة بين الجرعة و حدوث الإصابة في هذه المحاولات، يؤكد عدم توفر درجة الحساسية في طور العذراء.

8-2- تتأثر درجة حساسية اليرقات للإصابة بالفيروس بمؤثرات بيئية Stressors كما سبق ذكره مثل التزامح بين اليرقات في حيز محدود وظروف الرطوبة العالية وكلاهما يزيد من درجة حساسية الحشرة.

8-3- الأعمار الصغيرة من اليرقات أكثر حساسية للفيروس عن الأعمار الكبيرة بالرغم من الأخذ في الاعتبار وزن الجسم للحشرة فمثلا وجد أن الجرعة الوسط المميتة LD₅₀ لليرقة عمر 8 أيام كانت ثلاثة أضعاف ما يلزم لليرقة عمر 3 أيام وعند حساب الجرعة على أساس وزن الجسم كانت الزيادة ضعفين فقط. أي أن هناك اختلاف في درجة الحساسية فضلا عن الاختلاف في وزن الجسم .

9- مقاومة العائل الحشري للفيروس Host resistance

ما زال انتخاب السلالات تبعاً للقاعدة البيولوجية هو نتيجة للاختلافات داخل مجتمع الكائن Population والذي يعطى فرصة الانتخاب بالصفة.

هذا على الرغم من أن هناك ملاحظات لظهور درجة من المقاومة للفيروس عن طريق انتخاب يرقات نجت من الإصابة بعد تعرضها لتركيزات من الفيروس. فمثلا هناك حالات أنتخب فيها سلالات من *Pieris brassicae* مقاومة نسبياً للفيروس GV وذلك بمقارنتها بالسلالة الحساسة

للفيروس. ومن ناحية أخرى فهناك دراسات تؤكد عدم ظهور المقاومة للفيروس أو أنها مقاومة وقتية سرعان ما تتراجع، فإنه من المتفق عليه أن مقاومة الحشرات للإصابة بالفيروس مازالت غير مؤكدة ولا تشكل ظاهرة ثابتة وملحوظة كما هو الحال في مقاومة الحشرات للكيماويات (هي انتخاب لمسلات الفيروس أكثر منه مسلات مقاومة من المائل) ومن الجدير بالذكر هو أثر بعض العوامل في مقاومة العائل للإصابة بالفيروس:

9-1- العوامل الخارجية

وأهمها بصفة مؤكدة هو الاختلاف في درجة الحرارة. حيث تلعب درجة الحرارة دورا هاما في نجاح الإصابة أو نسبة نجاح الإصابة مثل:

- يرقا *Collas eurytheme* تظهر درجة من المقاومة للإصابة بالـ CPV في ظروف الحرارة العالية 35°م عنها عند 23°م. علما بأن حرارة تثبيط الفيروس هي 85°م مما ينفي تأثير الحرارة المباشرة على الفيروس.

- يرقا *Galleria mellionella* تظهر درجة من المقاومة لفيروس القزحى *Tipula* (iridescent virus TIV) على درجات حرارة أعلى من 30°م عنها عند 23°م.

9-2- العوامل الداخلية

- القناة الهضمية للحشرات مجهزة ببعض الحماية ضد غزو الفيروس. فقد اقترح أن سائل القناة الهضمية قد يكون لها درجات من التأثير المثبط على الفيروس.

- بالرغم من أن كثير من الفيروسات تتكاثر في الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى إلا أن ذلك لا يؤثر في طبيعة الجدار كحاجز إلى الدم (barrier) بصورة متخصصة بحيث لا يسمح للفيروسات التي لا تغزو أن تمر خلاله كمرحلة أولية لإصابة العائل (Matta & Lowe 1970).

- في كثير من الحشرات يتميز طور ما قبل العذراء (Pre-pupae) بدرجة من المقاومة المطلقة تقريبا وذلك بالنسبة للإصابة بالفيروسات مثلما وجد في حالة NPV لحشرة *Diprion hercyniae* حيث تبدأ الإصابة بالفيروس في الخلايا الطلائية للقناة الهضمية الوسطى وتلك الخلايا، في طور ما قبل العذراء، تكون خلايا جنينية مؤقتة وليست على ما يبدو حساسة للإصابة. علاوة على أنها تستبدل عند طور العذراء بخلايا هضمية جديدة.

9-3- الإضافات المنشطة

قد تتغير درجة الحساسية أو تتغير كفاءة الفيروس (Virulence) أو كلاهما بالإضافة للمنشطة مثل مواد الحماية من الأشعة الشمسية... Protective additives... محفزات التغذية Feeding stimulants..... والمواد المضادة للأكسدة Antioxidants.

10- المناعة في الحشرات ضد الفيروسات Immunity

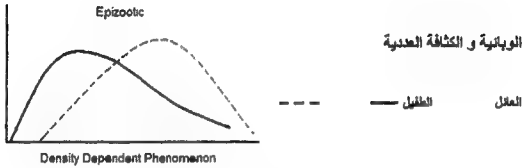
هناك محاولات لإحداث المناعة في الحشرات للفيروسات عن طريق تعريض مستمر ليرقات أجيال متتالية للحشرة وذلك بإعطائها جرعات منخفضة من الفيروس (مثال *Malacosoma dissitia* NPV). إلا أنه ليس هناك من النتائج ما يشير إلى حدوث المناعة. ومن الجدير بالذكر أن الحشرات كباقي اللافقاريات ليس لها جهاز مناعي بمثل الفقاريات أي لا تنتج مناعة ذاتية متخصصة (Humoral immunity) بل تقتصر المناعة (مع جواز التعبير) في حدود ما يسمى بالمناعة الخلوية (Cellular immunity) والتي تحدث في اللافقاريات نتيجة رد فعل الخلايا (Cellular response) في الصور الثلاثة الآتية:

- تجمع لخلايا الدم الحرة حول الأجسام الغريبة
Phagocytosis by free-floating haemocytes (Circulating haemocytes)
- خلايا متحدة في صورة أعضاء لتتجمع حول الأجسام الغريبة
Phagocytosis by fixed cells arranged into organs
- تغليف الأجسام الغريبة Encapsulation
هذا وتلعب العوامل البيئية والفسيولوجية والوراثية دوراً في المقاومة الخلوية للأجسام الغريبة.

11- تعاقب تواجد الفيروس Perennially

بقاء الفيروس في بيئة الحشرة وأثره في التعداد يتضح من الدراسات البيئية المتاحة و التي تنحصر في أنواع Baculoviruses. وليس هناك ما يمنع من أن تنطبق الحقائق الآتية على جميع الفيروسات الحشرية مع شيء من التحفظ:

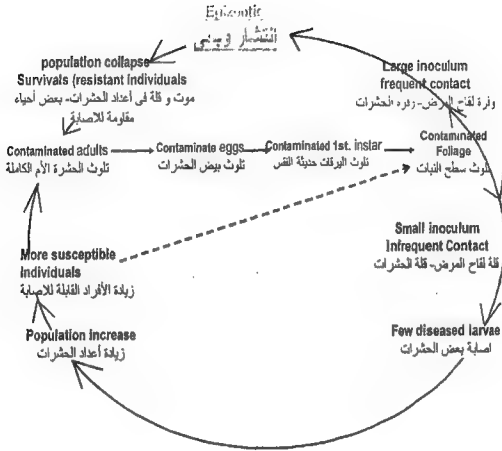
- 11-1- الفيروس الحشري عامل مميت (طفيل) يعتمد على الكثافة العددية للعائل (Density dependent mortality factor). فعد ظهور أعداد كبيرة من العائل يتوفر قدر كاف من الفيروس ويكون نتيجة ذلك حدوث إصابة وبائية بالمرض نتيجة طبيعية لانتشار الفيروس في البيئة Virus Epizootic.



11-2- إنتشار الفيروس في بيئة الحشرة يتأثر بعوامل بيئية متعددة بعضها قد يؤثر بطريق غير مباشر عن طريق التأثير على المعائل. وعموما هناك ثلاث عوامل تتحكم في حدوث الأوباء المرضي بالفيروس:

- درجة حساسية المعائل Susceptibility
- كثافة تعداد الحشرة Population density
- توفر الفيروس في البيئة تحت ظروف بيئية مناسبة.
- سلوك المعائل.

نتيجة الإنتشار الوبائي بالفيروس Epizootic ينخفض تعداد الحشرة بدرجة كبيرة ومع ذلك تبقى بعض الأفراد الأحياء التي نجت من الإصابة مما لا يؤثر بدرجة ضارة على المفترسات والطفيليات. كما يتضح من الشكل التالي:



12- أهمية الفيروسات في مكافحة الآفات الحشرية

اكتسبت الفيروسات المختلفة عموماً أهمية خاصة في مجال إستعمال الفيروس في مكافحة الآفات، وذلك بسبب وجود الغلاف البروتيني الذي يُكسب جزيئات الفيروس حماية زائدة تحت الظروف البيئية المختلفة التي يتعرض لها في الطبيعة، وكذلك ميزة تحضيرها معملياً. وقد اكتسبت فيروسات الـ **Baculoviruses** (الجرانيلوسيز والنوكليوبوليهيدروسيز) أهمية أكثر في هذا المجال وذلك للأسباب الآتية:-

- إنتشارها في كثير من الأنواع الحشرية خصوصاً الآفات من رتبة حرشفية الأجنحة **Lepidoptera**.
- درجة التخصص العالي بينها وبين المائل والتي تصل إلى مستوى النوع الحشري.

- تعتبر مأمونة الإستعمال من حيث الأثر الجانبية على الإنسان و الحيوان و النبات.
- عدم ظهور السلالات من الحشرات المقاومة لتلك الفيروسات.
- و من أهم الاعتبارات عند إستعمال مستحضرات الفيروس في مكافحة الآفات هو قياس ثبات الفيروس و إحتفاظه بنشاطه تحت الظروف الثلاثة الأساسية:-
الظروف الجوية - السطوح النبائية و التربة - المخاليط

12-1-1- ثبات الفيروس تحت الظروف الجوية

من أهم العوامل المؤثرة على الفيروس في الحقل هو تأثير العوامل الجوية مثل الأمطار الغزيرة التي قد تزيل جزيئات الفيروس من على السطوح النبائية، ثم الأشعة فوق البنفسجية في اشعة الشمس ، ذات الأثر المثبط المباشر على نشاط الفيروس (virus virulence) . أما درجات الحرارة العالية فقد يكون لها تأثير ثانوي غير مباشر و ذلك عن طريق أثرها على السطوح النبائية المعاملة و على المعائل.

12-1-1- تأثير الأمطار

يمكن القول بصورة عامة أن أثر الأمطار السالب في إزالة الفيروس من على السطوح النبائية يعتبر قليل ، و يمكن في أغلب الأحيان التغلب عليه. و من ناحية أخرى فهناك أثر موجب للأمطار الغزيرة و التي قد تغسل أجزاء اليرقات المريضة بالفيروس و تعمل على نشرها إلى و من التربة أو من نبات لأخر مما يساعد على نشر الفيروس في بيئة المعائل.

12-1-2- ضوء الشمس

أغلب الأثر المثبط على الفيروسات في الطبيعة يرجع إلى الأشعة فوق البنفسجية ((UV في ضوء الشمس المباشر . و بالنسبة للـ UV فإن أغلب التأثير المثبط يرجع إلى الأشعة القريبة (near wavelength) A 3800-3000 و التي تكون 0.1% من طاقة الشمس التي تصل إلى الكرة الأرضية ((Solar energy. في تجارب تأثير ضوء الشمس على مستحضرين من البوليهيدرا أحدهما مستحضر نقى و الآخر مستحضر غير نقى، كان التأثير أكثر على المستحضر النقي ، مما يشير إلى أن الشوائب المعتمة في المستحضر غير النقي تعمل على حماية البوليهيدرا من الأشعة فوق البنفسجية القصيرة المثبطة و يقل الأثر المثبط للـ UV كلما زادت طول الموجة.

وبالرغم من أنه وجد عموماً أن أقل طول للموجة يصل إلى الأرض من خلال الغلاف الجوي هو 291.5 nm ففي حدود هذه الموجات لا زال هناك تأثير مثبط لا يستهان به. كما أنه من الجدير

بالذكر تنسرب بعض الموجات القصيرة بين الحين والحين لأسباب متعددة. بل وقد يكون هناك بعض التأثير من جانب الأشعة المرئية. وعموما ينصح بالآتي عن إستخدام البوليهيدرا في المعاملات الحقلية:-

- المعاملة بالفيروس تفضل بعد غروب الشمس عنها في الصباح المبكر. و هنا يؤخذ في الإعتبار سلوك و نشاط الحشرة الأفة، فمثلا بعض اليرقات تنشط في التغذية ليلا أو نهارا.
- يفضل ثلاثي درجات الحرارة العالية أعلى من 30 م.
- يراعى في تركيز المحلول الفيروسي ألا يقل عن حد معين (حسب نوع الفيروس و الحشرة الهدف) حتى يوضع في الإعتبار تعويض للفقد الناتج عن احتمالات التثبيط.

المواد الحامية أو المنشطة Protective additives :-

هناك محاولات لإستخدام مواد حامية للفيروس من تأثير الـUV، وهي في أساسها مواد ملونة أو محببة يشترط فيها عدم التأثير على الفيروس أو أى مؤثرات جانبية مثل:- مسحوق الكاربون، كازين اللبن، المولاس، بعض الصبغات، وهي مواد تساعد على كسر الأشعة UVوهناك محاولات أخرى حديثة لتغليف جزيئات البوليهيدرا تغليف كامل (Microencapsulation) بمواد خاملة لا تنفذ منها أشعة الـUV و قد يكتب لهذه الطريقة النجاح، بحيث أن تكون إقتصادية. أما محفزات التغذية (feeding stimulants) فهي تزيد من تغذية العائل مما يزيد من جرعة الفيروس، وبالتالي ضمان زيادة التأثير و الفاعلية، أو تأثير منشط (synergistic) مباشر على الفيروس بحيث يعمل على حفظ بقاء الفيروس وتأجل تدهور فعاليته، مثل المركبات الطبيعية والصناعية لمضادات الأكسدة (antioxidants)).

وهناك مواد أخرى منشطة لفعالية الفيروس عن طريق غير مباشر وهو الفعل السالب على غشاء خلايا الغذاء Retrophic membrane في القناة الهضمية الوسطى للحشرة بحيث يساعد ذلك على سرعة نفذية وغزو الفيروس لجسم الحشرة.

12-1-3- تثبيت الفيروس في التربة

تصل الفيروسات إلى التربة عن طريق أجسام اليرقات المريضة بعد موتها و سقوطها من على النباتات بفعل عوامل التعرية، مثل الرياح والأمطار، أو نتيجة المعاملة بمستحضرات الفيروس على النباتات والتي تصل إلى التربة أيضاً. وتدل كثير من الدراسات على تحرر جزيئات البوليهيدرا في التربة:-

- وجدت جزيئات بوليبيدرا بصورة نشطة على أعماق تصل إلى 15 سم من سطح التربة، إلا أن أعلى تركيز وجد بين 0.1 ، 4-5 سم. و يظل الفيروس نشطا في عينات التربة لشهور عديدة تحت درجة حرارة المعمل.
 - تلتصق جزيئات البوليبيدرا بحبيبات التربة، وقد أمكن ملاحظة ذلك بالفحص المباشر بالميكروسكوب الإلكتروني (Scanning EM) ، أو عن طريق فحص قطاعات رقيقة في مستحضر التربة.
 - الإختبارات الحيوية (Bioassay) لعينات التربة المعاملة تشير إلى بقاء نسبة من البوليبيدرا النشطة لعدة سنين.
 - تختلف أنواع الفيروسات في درجة بقائها في التربة ، فمثلا *GV P. rapae* كان أكثر ثباتا في التربة من *GV T. ni* .
- و ينتشر الفيروس من التربة إلى النباتات عن طريق سقوط الأمطار أو تلوث أجسام اليرقات و العذاري التي تصل للتربة، ويعتمد هذا الانتشار إلى حد كبير على سلوك النوع الحشري.

12-2- ثبات الفيروس على المسطوح النباتية (Foliage)

ثبات الفيروس على المسطوح النباتية له أهمية خاصة لأن : تغذية اليرقات على الأجزاء النباتية الملوثة بالفيروس هو الطريق الرئيسى لوصول الفيروس للحشرة. وكذلك فإن معظم كمية الفيروس المتاحة في الطبيعة موجودة على الأجزاء النباتية حيث توجد أساسا أجسام الحشرات المصابة و الميتة.

و لسوء الحظ فإن قدرة الفيروس على البقاء على المسطوح النباتية أقل بكثير عنها في التربة. وتعتبر هذه هي المشكلة الأساسية في إستخدام مستحضرات الفيروس بالمعاملة على النباتات، إذ تتناقص كفاءة الفيروس بسرعة خلال أيام قليلة من المعاملة. و ذلك حيث أن الفيروس على المسطوح النباتية أكثر تعرضا لعوامل التثبيت المباشرة و غير المباشرة (وهنا يؤخذ في الإعتبار التركيب الطبيعي للنبات الهدف) (Physical structure of the spray target) و التأثير المباشر للمسطوح النباتية على الفيروس، مثل تأثير درجة الـ pH في وسط سطح الورقة.

12-3- ثبات الفيروس في المخاليط

- هناك محاولات لعمل طعوم فيروسية لزيادة فعالية وصول الفيروس للعائل. مثال خلط مستحضر *Heliothis NPV* بمستخلص مائي لنباتات الذرة. أو خلط الطعوم الجنسية Sex pheromones بمستحضرات الفيروس لتلوّث أجسام الإناث.

- خلط مستحضرات الفيروس مع المبيدات الكيماوية قد يزيد من كفاءة التأثير على الآفة. و يشترط في جميع الحالات عدم التأثير السالب علي كفاءة الفيروس في المخاليط.

تمرين

صمم اختباراً لفعالية NPV في عينتين من التربة أخذت في أوقات متباعدة.

13- توحيد مستحضرات الفيروس Standardization

حتى لا تتعرض مستحضرات الفيروس إلى احتمالات عدم الدقة في إستخدامها أو عدم الثقة في فعاليتها فقد اتفق على أن يمر المستحضر الفيروسي بعدة اختبارات قياسية هامة قبل أن يأخذ صفة المستحضر. ولقد وضعت الإقتراحات الآتية للتوحيد القياسي للفيروسات المستخدمة في مستحضرات المعاملات الحقلية:-

13-1- كل نوع من الفيروس يجب أن يكون له سجل يحتوى على كل المعلومات منذ أن يتم عزله و تعريفه. و أن يتم تحضيره تبعاً للطرق المتفق عليها و تحت ظروف مناسبة تضمن ثباته.

13-2- يختبر المستحضر الفيروسي بطرق موحدة وقياسية على أسس مطابقتها لمواصفات محددة وثابتة، و تأخذ المواصفات درجات أو مستويات متفق عليها، مترجمة على أساس وحدات ثابتة في المستحضر. وذلك حتى يتسنى إجراء اختبارات مقارنة بين المستحضرات المختلفة ، وفي أماكن مختلفة.

13-3- قياس كفاءة المستحضر تحسب على أسس من الاختبارات الحيوية الدقيقة على حشرة اختبار محددة وقياسية.

14- اختبارات الأمان للفيروس Safety tests

تجرى اختبارات الأمان للفيروس للتأكد من عدم خطورته في أى صورة في البيئة. و يتم ذلك عادة في إطار خطة طويلة الأجل قبل الإستخدام في المعاملات الحقلية أو التصريح له في مستحضر وتتضمن خطة اختبارات الأمان الآتي:-

تجرى الاختبارات الحيوية التي يستخدم فيها حيوانات مقارنة كالفئران والأرانب والكلاب والقروود والإنسان سواء بالتغذية أو الحقن العضلي والوريدي. ثم مراقبة أى دلائل قريبة أو بعيدة لنشاط الفيروس نتيجة المعاملات المختلفة

(ليس مجرد ردود الأفعال الظاهرية علي العائل تحت الاختبار).

- اختبارات تنمية الفيروس على مزارع الأنسجة من الفقاريات.
- اختبارات لأثر الفيروس الموضعي على الجلد و الأنف و الحجرة.
- اختبارات أثر الفيروس على الطيور و الأسماك.
- اختبارات اثر الفيروس على النباتات المختلفة.

و لكي يمر مستحضر فيروس واحد خلال تلك الاختبارات يلزم فريق كامل من إخصائي الفيروسولوجي يعمل طول الوقت لمدة خمس سنوات. إلا أنه يمكن أن تجري اختبارات الأمان علي التوازي منذ عزل وتعريف أي فيروس.

تمرين

صمم اختبار لتوضيح أثر UV في ضوء الشمس على النشاط والبقاء على المسطوح النباتية لفيروس NPV في مستخلص يرقات مريضة وآخر في مستحضر بوليبيدرا نقي.

رابعاً الحشرات كناقلات لفيروسات النبات

-1

Insect vectors الناقلات الحشرية

ناقلات الأمراض الفيروسية للنبات تشمل أنواع من الحشرات بجانب أنواع من النيماتودا والأكاروس الناقل للفيروس، وتحتل الحشرات المركز الأول كناقلات لكثرة الأنواع الحشرية الناقلات وكفاءتها في الانتشار وكذلك سلوك التغذية والمعيشة.

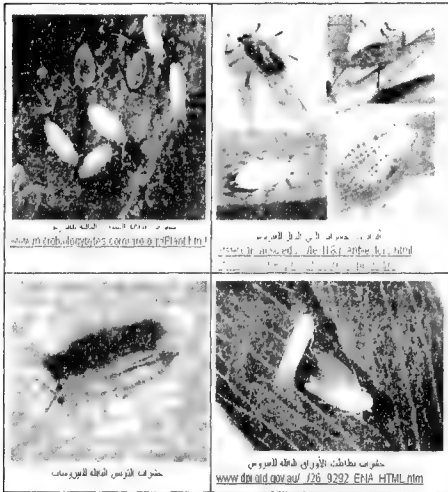
وتتنوع العلاقة بين الناقل والفيروس، فبالرغم من أن هناك ناقلات للفيروس من حشرات عمودية الأجنحة ذات أجزاء الفم القارضة إلا أن المجاميع الهامة كناقلات هي الحشرات التي تتغذى بامتصاص عصارة النبات التي يسرى فيها الفيروس. ويمكن القول أن رتبة متشابهة الأجنحة Homoptera تتضمن الغالبية العظمى من الناقلات وبالرغم من وجود ناقلات من البق الدقيقي والذباب الأبيض، إلا أن مجموعتي المن Sternorrhyncha ونطاطات الأوراق والنبات Auchenorrhyncha هما الأساسيتان من حيث أعداد الناقلات وأهميتها الاقتصادية، بجانب توفر جميع أنظمة العلاقة بين الناقل والفيروس.

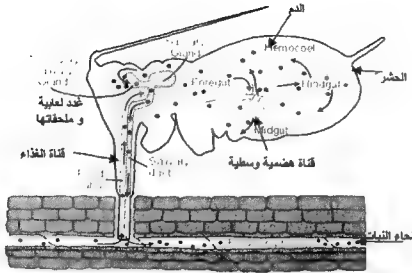
والمن يأتي في المرتبة الأولى كناقلات من حيث عدد الأنواع التي تعمل كناقلات (Vectors) ويليه نطاطات الأوراق. كذلك تتميز مجموعة المن بتواجد جميع أنظمة الفل المختلفة فتشمل فيروسات غير باقية وفيروسات نصف باقية وفيروسات باقية، في حين أن الفيروسات التي تنتقلها نطاطات الأوراق هي حتى الآن جميعها من النوع الباقي فيما عدا فيروس واحد يحتمل أن يكون نصف باق وتنتقله نطاطات الأوراق و هو (Rice Tungro disease).

2- نقل الفيروس Virus transmission by vectors

تنتقل الحشرة الناقل (insect vector) الفيروس من نبات مصاب به إلى نبات آخر سليم عن طريق مرحلتين تغذية على العصارة النباتية الأولى تغذية على عصارة النبات المصاب لإكتساب الفيروس (acquisition) والثانية على النبات السليم لتلقيح أو تطعيم الفيروس به (inoculation). فالنبات المصاب (infected plant) هو النبات مصدر الفيروس (source plant) والنبات السليم (healthy plant) هو نبات لاختبار النقل (test plant) أو دليل حدوث النقل (indicator plant).

والحشرة قبل الاكتساب غير حاملة للفيروس (non-viruliferous) وبعد الاكتساب هي حاملة للفيروس أو معدية به (Viruliferous). ويحمل الناقل (vector) الفيروس في مكان متخصص (Virus site of retention) وتقوم الحشرة بنقل الفيروس عن طريق زيارتها المنتظمة لنبات مصاب (مصدر للفيروس) وآخر سليم (حساس للفيروس).





ميكانيكية التغذية على نسج النبات ونقل الفيروس بواسطة الحشرة

1-2- مراحل النقل (Transmission steps):

1-1-2- فترة الاكتساب للفيروس: Acquisition time

هي الفترة من الوقت التي تتعرض فيها الحشرة غير الحاملة للفيروس للنبات

مصدر الفيروس ثم تصبح بعدها حاملة له (viruliferous). وليس بالضرورة أن تتغذى الحشرة

تغذية مستمرة طول فترة التعرض، وبالتالي فتسمى فترة التعرض للاكتساب Acquisition

AAT (access time) أما إذا لوحظت الحشرة أثناء التعرض للنبات المصدر وحسبت فقط فترات

التغذية الفعلية خلال التعرض فتلك هي فترة تغذية الاكتساب (Acquisition feeding time) .AFT

أقل فترة إكتساب للفيروس Minimum acquisition time

هي أقل فترة تعرض أو تغذية على النبات مصدر الفيروس التي عندها يصبح فرد واحد على الأقل

من الحشرة تحت الاختبار معدياً. وفي هذه الحالة يلزم تكرار محاولة الاختبار لفترات إكتساب قصيرة

قبل تحديد الحد الأدنى لفترة الإكتساب.

أما أقصى (Maximum) فترة إكتساب هي التي عندها تصبح جميع الأفراد معدياً بالفيروس، والتي

بعدها أي زيادة في فترة الإكتساب لا يصحبها زيادة في كفاءة النقل.

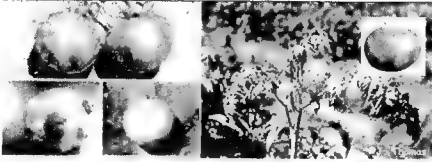
2-1-2- فترة التطعيم أو تلقيح الفيروس Inoculation time

وهي الفترة من الوقت التي تتعرض فيها الحشرة المعدية (Viruliferous) لنبات الاختبار دليل الفيروس (Indicator plant) فيتم تلقيحه بالفيروس وتظهر الإصابة (Infection) به فيما بعد وأيضاً هي إما فترة تعرض للتلقيح (Inoculation access time) أو فترة تغذية فعلية. كذلك يمكن حساب أقل فترة تطعيم (سواء تعريض أو تغذية) والتي تسمى (Minimum inoculation time) أو أقصى فترة تلقيح (Maximum). ومن الجدير بالذكر أنه يمكن حساب إحصائيات الفترات المتوسطة لكل من الاكتساب (AT_{50}) وكذلك التلقيح (IT_{50}).

2-1-3- فترة الاحتفاظ بالفيروس بواسطة الناقل Virus retention by vector

بعد إكتساب الناقل للفيروس يظل محتفظاً به لفترة تطول أو تقصر حسب نوع الفيروس تلك هي فترة الاحتفاظ بالفيروس: الفترة من الزمن التي تبدأ بمجرد اكتساب الحشرة للفيروس وتصبح معدية به وتنتهي بمجرد أن تفقد الحشرة الفيروس تماماً وتصبح غير معدية (Non-viruliferous). بشرط أن يتم حساب تلك الفترة عملياً عن طريق ما يسمى بالتعرض المتتابع للحشرة المعدية لسلسلة من نباتات الاختبار "Serial successive transfers to new test plant". وذلك بالسماح للحشرة المعدية بالتغذية على أول نبات لفترة معينة ينقل بعدها إلى النبات الثاني لنفس الفترة وهكذا، ثم بملاحظة ظهور الأعراض على النباتات المتتابعة يمكن تقدير مدة الاحتفاظ بالفيروس. وتختلف الفيروسات النباتية في خصائص وطبيعة النقل (Transmission) التي تبدأ منذ تغذية الناقل على مصدر الفيروس حتى حدوث الإصابة (Infection) على نبات الاختبار السليم. وهذه الاختلافات في طبيعة النقل تمثل خواص الفيروس نفسه وليست من خواص الناقل، فالفيروس الواحد الذي تنقله أنواع حشرية مختلفة ينقل بطبيعة واحدة من النقل (Transmission mechanism). لذلك فالنوع الحشري الواحد يمكن أن ينقل فيروسات مختلفة ولكن أيضاً بطرق مختلفة حسب طبيعة الفيروس نفسه.

بعض علامات الإصابة بالأمراض الفيروسية التي تنتقل بواسطة الحشرات



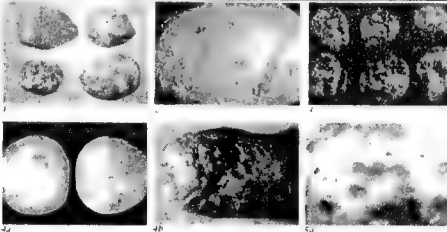
النبول المتبقع في الطماطم

www.dpvvve.net/intro/index.php



فيروس موزيك القرعيات

www.biologie.uni-hamburg.de/_fe35/symptome.htm



نزلات البطاطس المصابة بالفيروسات

www.Vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/photopage

3- أقسام الفيروسات التي تنقلها الحشرات

وتقع الفيروسات عموماً من حيث طبيعة نقلها في ثلاث مجموعات:

- فيروسات باقية Persistent viruses
- فيروسات نصف باقية Semi-persistent viruses
- فيروسات غير باقية Non-persistent viruses ومنها ما يتكاثر داخل الحشرة (Propagative).

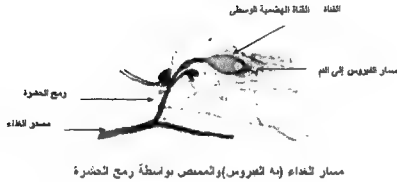
وعلى ذلك تسمى طبيعة النقل (Transmission mechanism) كما يلي:

- Persistent Transmission ونقل باقى
 - Semi-persistent Transmission نقل نصف باقى
 - non-persistent Transmission نقل غير باقى
- وواضح أن التسمية نشأت من فترة الاحتفاظ بالفيروس بواسطة الناقل Virus retention by vector. وعموماً فالحد الأقصى للاحتفاظ بالفيروس (Maximum retention) في المجاميع الثلاثة كالآتي:

- من دقائق معدودة إلى ساعة (غير باقى)
 - من ساعات إلى يوم أو أيام قليلة (نصف باقى)
 - من أيام معدودة إلى أسابيع (باقى) وقد تستمر طول حياة الحشرة وذلك في حالة الفيروسات التكاثرية (Propagative) بل وقد ينتقل إلى الأجيال التالية للحشرة الناقلة (Transovarial).
- ولمست تلك النتيجة هي الفرق الوحيد بين مجاميع الفيروسات المختلفة بل أن هناك اختلافات واضحة في جميع مراحل النقل بجانب سلوك الفيروس داخل النبات وداخل الحشرة علاوة على احتمال اختلافات مورفولوجية للفيروس في كل مجموعة.

4- الفيروسات الباقية Persistent viruses

الفيروسات الباقية هي تلك الفيروسات التي مازالت مرتبطة طويلاً بالحشرات (العائل الأولى) وهي تلك الفيروسات التي بعد إكتسابها تدخل في دورة داخل جسم الحشرة (Circulative viruses) فتمر من القناة الهضمية إلى الدم ثم الغدد اللعابية وذلك قبل أن تصبح الحشرة قادرة على إحداث العدوى بها. وتظل الحشرة محتفظة بفعاليتها المعدية لفترة طويلة قد تمتد إلى طول حياة الحشرة. ولذلك فإن إنسلاخ جلد الحشرة لا يؤثر على استمرار حملها للفيروس، فتظل محتفظة به بعد الانسلاخ.



- بعض هذه الفيروسات تبدو وكأنها فقط تمر في دورة داخل جسم الناقل دون تكاثر بداخله إلا أن هناك البعض ثبت تكاثره داخل جسم الحشرة وتلك يطلق عليها الفيروسات التكاثرية (Propagative viruses). ومن أسباب صعوبة دراسة أغلب فيروسات هذه المجموعة هو:
- أن هذه الفيروسات تتواجد عموماً بتركيز قليل في أنسجة النبات المصاب، وغالباً ما تكون مرتبطة بنسيج خاص عميق في النبات فيصعب الحصول عليها بكميات مناسبة للإختبارات المعملة المباشرة كالفحص الالكتروميكروسكريبي أو إختبارات التغذية الصناعية للمن على الفيروس (Artificial feeding through parafilm membranes) أو بتكنيكات من التكنولوجيا الحيوية للأمصال (Serological tests) إلخ.
 - عدم قابلية أغلب هذه الفيروسات للإنتقال بالتلقيح بالعصير (Manual inoculation) على دلائل نباتية (Indicator plants) يزيد من صعوبة الإختبارات الحيوية المقارنة (Bioassays) فالقليل جداً مثل (PYDV, CmotV, LNYV, PEMV) يمكن نقلها بالعصير.

وقد ترجع قابلية الانتقال بالعصير إلى وجود الفيروس في الأنسجة السطحية للنبات بجانب وجوده في الأنسجة العميقة. إلا أن تلك القاعدة ليست مطلقة فبالرغم من أن SYVV يصيب بعض الأنسجة السطحية لنبات *Sonchus oleraceus* إلا أن جميع المحاولات لنقله بالعصير قد فشلت. ولذلك قد يكون السبب أيضاً هو عدم قدرة الفيروس على الثبات في العصير.

1-4- ميكانيكية التغذية في حشرات المن Aphid feeding mechanism ، وعلاقتها باكتساب وتلقيح الفيروس الباقي

تخترق حشرة المن نسيج النبات بواسطة خرطوم يسمى الرمح (Stylet) الذي هو عبارة عن زوجين من الإبر الفكية المتخصصة في إختراق الحزم الوعائية. وإذا كانت الحشرات أساساً تتغذى

على نسيج اللحاء فإن الرمح يخترق أنسجة النبات حتى يصل إلى نسيج اللحاء. وفي حالة نشاطات الأوراق فإن اختراقها أقوى وأسرع من المن. ويختلف المن في الفترة اللازمة للرمح منذ بداية اختراق النبات حتى الوصول إلى نسيج اللحاء باختلاف الأنواع من المن، وعموما فهي تتراوح من دقيقتين إلى خمسة عشر دقيقة كحد أدنى بمعنى أن الرمح يحتاج على الأقل دقيقتين لكي يصل إلى نسيج اللحاء.

وباختراق الرمح لنسيج النبات يتكون حوله غمد أنبوبي من إفراز اللعاب (Proteinaceous tubes) ويصعب التأكد من وظيفة ذلك الغمد (Stylet sheath) الذي يلاصق الرمح خلال عملية الامتصاص السريعة لعصير النبات. إلا أنه هناك اعتقاد بأنه يدعم الرمح خلال الاختراق والتغذية. ويقال أنه يعمل كمصفاه لمنع تسرب الجزيئات الدقيقة المختلطة بالعصير مثل البكتيريا، ويحتل الفيروسات أيضا. وقد ثبت بتجربة عملية عند تغذية حشرة المن صناعيا على محلول سكري يحتوي جزيئات كربون (بإضافة صبغة الحبر الصيني) فقد لوحظ بالرغم من وصول الصبغة إلى معدة الحشرة إلا أنها لم تتغذى من خلال الغمد. والغمد مفتوح من طرفه البعيد ليمتد خلف نهايته طرف الرمح حرا لبضعة ميكرونز (1/1000 من المليمتر) وعندما تقوم الحشرة بسحب الرمح من نسيج النبات، فإنها تترك الغمد في النسيج حتى أنه يمكن الاستدلال على خط سير الرمح عن طريق التثبيت والصبغ السريع لنسيج النبات المتغذى عليه وفحص وجود الأضداد في القطاعات.



2-4- تأثير شحنة الفيروس الباقي على كفاءة الحشرة كناقل Virus charge

الشحنة هي كمية الفيروس التي تكتسبها الحشرة أثناء التغذية على النبات مصدر الفيروس (Virus source). فعندما تتغذى الحشرة على نبات مصدر للفيروس فتكتسب شحنة (Virus charge) تزيد كمية هذه الشحنة تدريجيا حتى تصل إلى حد يجعل الحشرة حاملة للفيروس بصورة تصبح معها معدية (Viruliferous) فمن المتبع في حالة الفيروسات التكاثرية أن الحشرة تحتفظ بقدرتها المعدية ثابتة بمجرد أن تصبح معدية (Viruliferous) بحيث أنها تحصل على امداد مستمر

من الفيروس الذي يتكاثر عدده باستمرار داخل جسم الحشرة. وعلى ذلك فليس هناك تأثير على كفاءة الحشرة بزيادة شحنة الفيروس عن الحد الذي تصبح فيه الحشرة معدية عند الحد الأدنى لفترة الاكتساب (maAT) أما تلك الفيروسات التي لا تتكاثر داخل جسم الحشرة الناقلة فمن المنتظر أن تكون شحنة الفيروس عاملاً مؤثراً على كفاءة الحشرة المعدية وعلى مدة إحتفاظها به في حدود الحد الأقصى لهذا الإحتفاظ (Maximum retention) حسب نوع الفيروس.

4-3- خصائص الفيروسات الباقية:

4-3-1. تزداد قدرة الحشرة على إكتساب الفيروسات الباقية عموماً وفعالية نقلها بزيادة فترة التغذية على مصدر الفيروس (Acquisition time) وكذلك بزيادة التغذية على النبات السليم (Inoculation time).

4-3-2. أقل فترة إكتساب للفيروس الباق بواسطة المن (AT min) هي صوماً من 2 إلى 15 دقيقة وهي الفترة الأدنى لوصول الرمح إلى الأنسجة العميقة في النبات ثم تزداد شحنة الفيروس المكتسب من دقائق إلى ساعات أو حتى أيام حسب الفيروس.

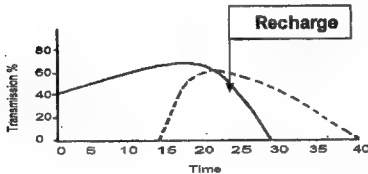
4-3-3. أقل فترة تلفيح للفيروس الباق عموماً (min AT) تتراوح ما بين 2 و5 دقائق ويزداد إ احتمال حدوث الإصابة في نبات الاختبار بزيادة فترة التلقيح من دقائق إلى ساعات إلى 24 ساعة.

4-3-4. قد ينتقل الفيروس من المن الحامل له إلى الحضنة لجول أو أكثر فتصبح الحضنة حاملة للفيروس ومعدية به (Transovarial transmission) خصوصاً في الفيروسات التكاثرية.

4-3-5. بعض الفيروسات الباقية التي أمكن الحصول عليها معملياً يمكن للنقل إكتسابها عن طريق التغذية الصناعية خلال أغشية صناعية خاصة (Parafilm membrane).

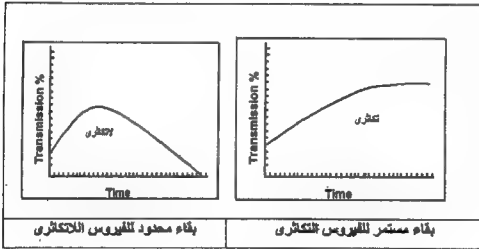
مثال فيروس : **Barley yellow dwarf & Beet Western yellows** و عدد أيام بقاء الفيروس يدل عليه معدل النقل المتتابع للفيروس

و زيادة البقاء بعدها مقروناً بتغذية إكتساب إضافية (Recharge) كما في الشكل التالي:



وعلى ذلك يمكن تجديد كفاءة النقل لفترة أو تأخير الانخفاض إذا ما أعيد شحن الناقل بالفيروس عن طريق تغذية إكتساب إضافية (Recharge) كما يظهر في الفيروسات اللاتكاثرية. أما بالنسبة للفيروسات التكاثرية فإنه يزداد عدد الأفراد الناقلة التي تصبح معدية بزيادة فترة الإكتساب إلى الحد الذي تصبح فيه كل الأفراد حاملة للفيروس فتتقارب كفاءتها المعدية بصرف النظر عن شحنة الفيروس (Virus charge) وعلى ذلك فمحاوله إعادة الشحن لا يظهر لها أثر. وقد اعتبرت إختبارات كفاءة النقل وشحنة الفيروس في الفيروسات الباقية أسلوب بجانب أساليب أخرى لتميز الفيروسات التكاثرية واللاتكاثرية ودرجة إحتفاظ الحشرة بالفيروس الباق.

من المعروف أن الفيروسات الباقية بعد تغذية إكتساب واحدة تحتفظ بقدرتها على نقل الفيروس لأيام عديدة تختلف باختلاف نوع الفيروس اللاتكاثري. أما الفيروسات التكاثرية فمن المتوقع أن تحتفظ بها الحشرة طول حياتها حتى الموت (أنظر الشكل). فعند إجراء هذا النوع من التجارب يظهر الآتي:



4-3-6- في حالة الفيروسات الالتهائية: فعند النقل اليومي على نبات اختبار جديد فان معدل النقل يزداد في الأيام الأولى ثم يقل تدريجيا ويظهر إنخفاض خاد حتى تفقد الحشرة القدرة تماما على النقل. ومن الجدير بالذكر أنه لا يمكن تجاهل عوامل أخرى تتدخل في ظهور هذا الانخفاض وأهمها عمر الحشرة فكلما كبرت الحشرة "المن مثلاً" في العمر قلت درجة تغذيتها وبالتالي درجة إخراج الندوة العسلية (Honey dew) خصوصا عند نهاية فترة الولادة. وقد أمكن الربط بين الانخفاض في قدرة حشرات المن على أحداث العدوى وبين درجة إفرازها للندوة العسلية.

4-3-7- في حالة الفيروسات الالتهائية: فيزداد معدل النقل في الأيام الأولى حتى يصل إلى حد ثابت تقريبا والذي بعده لا يحدث إنخفاض نهائى في معدل النقل.

تجارب معملية

1. صمم تجربة معملية لإثبات عدم فقد حشرة ناقلة للفيروس بعد إنسلاخها أخذاً في الاعتبار عدم تعرضها لشحنة من الفيروس
2. صمم اختبار لقياس درجة احتفاظ الحشرة لفيروس من النوع الباقي.
3. صمم اختبار للفرقة بين فيروسين في مصدر نباتي واحد أحدهما لالتهائي والآخر تكاثري ولهما ناقل واحد (نوع من المن).

4-4- مصير الفيروس الباقي بعد دخوله جسم الحشرة

بعد دخول الفيروس الباقي مع غذاء الحشرة يمر من القناة الهضمية الأمامية ثم الوسطى (Foregut & Midgut) ثم يتسرب خلال جدار الوسطى إلى دم الحشرة ومن الدم إلى الغدد اللعابية حيث منها يمكن تلقيحه عند أى تغذية تلقى للحشرة. وقد وجد أن الحشرة لا تستفيد بكل شحنة الفيروس المكتسب بل بعض الفيروس ينفذ مباشرة خلال قناة الغذاء ويخرج مع إفرازات الحشرة. فقد وجد مثلاً كمية من فيروس PEMV في إفرازات حشرة المن الناقل بعد 90 دقيقة من إكتسابها للفيروس، كما تحتوي الندوة العسلية أيضاً على بعض الفيروس. ويبدو أن السبب في ذلك أنه بتغذية الحشرة المعديّة على عصير نبات سليم فإن العصارة النباتية المندفعة داخل قناة الغذاء تطرد بعض الفيروس الموجود في القناة الهضمية. ويفسر ذلك بأن تجويع المن بعد الإكتساب-Post acquisition starvation يزيد من فرصة إمتصاص الفيروسات من القناة الهضمية إلى الدم

الذى يعتبر المخزن الرئيسى للفيروس في حين أن التغذية مباشرة على نبات سليم تفقد جزءا من الفيروس مع إخراج الحشرة ففي تجارب Ponsen 1970 على الفيروس PLRV كانت كفاءة الأفراد التى تعرضت لهذا التجويع 70% قدرة معدية في حين أن الأفراد التى تغذت مباشرة كانت فعاليتها 10% قدرة معدية. وذلك أن التجويع زاد الشحنة من الفيروس التى تصل إلى الدم ثم الغدد اللعابية للحشرة. وعلى ذلك ظهرت فكرة فترة الاكتساب الفعالية (The actual acquisition time) على اعتبار أن تلك الفترة لا تبدأ فقط عند دخول الفيروس إلى القناة الهضمية للحشرة بل بالتحديد منذ بداية إنتقال الفيروس من القناة الهضمية إلى الدم. كذلك الحال في فيروس التفقر الأصفر في الشمعير (BYDV) بواسطة المن الناقل. فعند فحص تركيز الفيروس داخل القناة الهضمية للحشرة بعد إكتسابه (من النبات مصدر الفيروس). فإن في الـ 24 ساعة الأولى كان تركيز الفيروس في القناة الهضمية ثابتا تقريبا ثم بعدها أخذ يقل تدريجيا حتى وصل إلى أقل تركيز بعد 4 أيام وعلى ذلك فإن فترة الإكتساب الكلية تفوق تغذية الإكتساب إلى فترة مرور الفيروس من القناة الهضمية تدريجيا إلى الدم حتى تخلوا القناة الهضمية تماما من الفيروس.

4-5- التسرب غير المتخصص داخل جسم الحشرات الناقلة لفيروسات غير قابلة للنقل. Non-specific ingestion

الفيروسات التى لا تنتقل (إطلاقا) بواسطة الحشرات من الممكن أن تمر خلال القناة الهضمية مع الغذاء ولكن الحشرة لا تصبح معدية بها مثال ما يحدث لفيروس TYMV Turnip yellow mosaic virus حيث يتسرب داخل الناقل *Hyadaphis brassicae* وكانت هناك كمية كبيرة من الفيروس بقيت في القناة الهضمية لعدة أيام. ويقصر ذلك بأن تسرب الفيروس خلال الفم، في هذه الحالة هو تسرب غير متخصص. ويعتقد أن جدار القناة الهضمية للحشرة هو أول خط حاجز First barrier يتحكم في نفاذية أو عدم نفاذية الفيروسات إلى الدم فهو بالتالى حاجز متخصص (Specific barrier) إلا أن هناك أيضا عوامل أخرى تمنع التسرب المتخصص خلال كل الأعضاء التى يمر بها الفيروس داخل جسم الحشرة.

4-6- فترة الحضانة (فترة الكمون) (Incubation period (Latent period

فترة الحضانة من أهم خصائص الفيروسات الباقية سواء كانت تكاثرية أو لانتكاثرية وهى الفترة من الوقت التى تقضيها الحشرة الناقلة بعد اكتسابها للفيروس حتى تصبح معدية به. بمعنى أنه إذا أجريت تجربة تغذية تلقى بعد الاكتساب مباشرة لفترات مختلفة (ساعة - يوم) يمكن تقدير الفترة

اللازمة لحضانة الفيروس. وتفسير ذلك كان موضوعا للمناقشة بين كثير من الباحثين إذ حاولوا تحديد طريقة قياس لهذه الفترة على أن تكون مقياس ثابت (standard) للمقارنة بين الفيروسات المختلفة.

فمنذ البداية عرفت فترة الحضانة حيث عبر عنها بالوقت اللازم لجزيئات الفيروس الفعالة حتى تمر من الفم إلى القناة الهضمية ثم الدم ثم الغدد اللعابية بكميات كافية لإحداث العدوى عند تغذية الحشرة على أول نبات سليم.

4-6-1- أقل فترة حضانة Minimum latent period

من الواضح أن هذا التعريف قد عبر بصفة خاصة عن أقل فترة للكمون (Minimum) إلا أن ذلك التحديد لا يمكن الاعتماد عليه في بعض الحالات، فتحت للظروف التجريبية يستحيل أحيانا ملاحظة أقل فترة كمون، خصوصا في الفيروسات ذات فترة الحضانة القصيرة، والتي قد تقل عن مجموع فترتي الاكتساب والتلقيح. تلك الظروف التي واجهت دراسة فترة الحضانة في فيروسات PLRV & PEMV & BYDV. فغالبا ما يلزم لكفاءة نقل هذه الفيروسات تغذية إكتساب تطول إلى 24 ساعة على النبات مصدر الفيروس ثم بعد ذلك تغذية تلقيح على النبات السليم للاختبار حوالي 24 ساعة أخرى. ونتيجة ذلك أن بعض الحشرات تنجح في إحداث إصابة على نبات الاختبار الأول. وتزداد بعد ذلك كفاءة النقل على النبات الثاني كما يلي:

24 ساعة تغذية تلقيح على نبات الاختبار.:

نبات الاختبار:	الأول	الثاني	الثالث
انتقال الفيروس:	—	+	+
	—	—	+

فترة حضانة الفيروس داخل الحشرة

4-6-2- فترة الحضانة القصوى Maximum latent period

فترة الحضانة يمكن التعبير عنها بصورة أدق عمليا كأكصى فترة حضانة (max LP) كالتى: هي الفترة منذ إكتساب الفيروس حتى تستطيع الحشرات الحاملة له أن تسبب أقصى درجة من الإصابة عند تعريضها إلى نباتات الاختبار (أقصى معدل لنجاح النقل بين الأفراد المعدية).

إلا أن ذلك الاقتراح أيضا لا يحل مشكلة تحديد فترة الحضانة للفيروسات المختلفة حيث يصعب تحديد تدخل عوامل أخرى قد تتدخل في كل تجربة والتي سببها الاختلافات الفردية بين أفراد المن وظروف إجراء التجارب بواسطة باحثون مختلفون.

4-6-3- فترة الحضانة المتوسطة

وعلى ذلك كان استخدام مقياس إحصائي لفترة الحضانة المتوسطة LP_{50} والتي هي الفترة من الزمن بين اكتساب أفراد الحشرات الناقلة للفيروس وحتى يستطيع 50% من تلك الأفراد الحاملة للفيروس (Viruliferous) إحداث الإصابة على نبات الاختبار. ومع ملاحظة أن تحسب هذه النسبة تجريبيا على أساس عدد الأفراد فقط الحاملة للفيروس.

و العوامل التي تؤثر على LP_{50} هي:

• فترة الاكتساب (AFT) :

من الواضح أن فترة الاكتساب المستخدمة في التجربة تؤثر على شحنة الفيروس من ناحية ثم من ناحية أخرى في حالة إطالة مدة تعرض الحشرة للنبات المصدر للفيروس فقد تبدأ فترة الحضانة بينما مازالت الحشرة معرضة للاكتساب. وعلى ذلك فلحساب فترة الكمون على درجة من الدقة يجب الاعتماد على أقل فترة إكتساب ممكنة تتعرض لها الحشرات تحت الاختبار وعموما تقدير الـ LP_{50} يكون عادة مقرونا بفترة الاكتساب تحت الاختبار.

• درجة الحرارة:

في حدود معينة تتأثر الـ LP_{50} بدرجات الحرارة وعموما تقصر فترة الحضانة بارتفاع درجات الحرارة وتطول في درجات الحرارة المنخفضة فمثلا بالنسبة لـ LP_{50} لفيروس PEMV كانت LP_{50} تحت درجات حرارة مختلفة كالآتي:

Temp	:	10°C	20	30°C
LP50	:	70min	2h	14 h

4-6-4- تفسير ظاهرة فترة الحضانة LP في الفيروسات الباقية:

تتوزع فترة الحضانة إلى واحد أو أكثر من ثلاث فروض وضعت لتفسير الظاهرة:

• هي الفترة اللازمة لمرور الفيروس في دورته داخل جسم الحشرة بعد اكتسابه خلال الفم ومنه إلى القناة الهضمية ثم الدم ومنه إلى الغدد اللعابية بتركيز مناسب يسمح للحشرة بحقنه أثناء التغذية على نبات سليم.

• هي الفترة اللازمة لتكاثر الفيروس التكاثرى وزيادة تركيزه إلى الحد المناسب لحدوث الإصابة به عند حقنة بواسطة الحشرة.

• عند إنتقال الفيروس من الوسط النباتى إلى الوسط داخل جسم الحشرة قد يمر بفترة كمون يستعيد بعدها نشاطه العادى.

وقد دعت الأسباب الأتية إلى تلك الفروض:

فبالنسبة للفرض الأول يمكن الاستدلال عليه باختبارات تتبع تركيز الفيروس في القناة الهضمية للمن وربطه بتركيزه في الدم وطول فترة الحضانة. ومن التجارب التى تشير إلى إرتباط فترة الحضانة بانتقال الفيروس في دورته داخل جسم الناقل، أن اكتساب الحشرة للفيروس مباشرة عن طريق حقنه في الدم (Inter-haemocoel) تعمل على قصر فترة الحضانة لتلك الفيروس عما إذا إكتسب عن طريق التغذية على نبات مصدر الفيروس. فقصر فترة الحضانة في حالة الحقن في الدم قد يرجع إلى توفير الوقت اللازم للفيروس للوصول إلى الدم وبمجرد إكتساب الحشرة للفيروس من النبات المصاب يمكن تتبع تركيز الفيروس في القناة الهضمية عن طريق تكنيك الامصال الدقيق (Fluorescent antibody technique) على مدى فترة الحضانة بحيث تظهر علاقة بين تناقص التركيز في القناة الهضمية تدريجيا مع إقتراب نهاية مدة الحضانة ثم بعدها ينعدم الفيروس في القناة الهضمية.

بالنسبة للفرض الثانى يستدل عليه من الاختلاف الواضح في طول فترة الحضانة بين الفيروسات التكاثرية واللاتكاثرية فالفيروسات التكاثرية مثل فيروسات LNYV & SYVV فكلاهما له فترة حضانة لا تقل عن 8 أيام، فإن الدراسات الهستولوجية لأنسجة الفيروس داخل ناقله الحشرى إقتصرت على الفيروسات التى تتكاثر داخل جسم الحشرة، وذلك لصعوبة التعرف على الفيروس في الأنسجة بدون وجوده بكميات مناسبة. وبالرغم من ذلك فإما زالت هناك فيروسات تكاثرية لا يسهل التعرف عليها، مقارنة بالفيروسات اللاتكاثرية صوما والى جميع تقديراتها لفترة الحضانة تصل في قصرها من عدة ساعات إلى 24 ساعة ولا تتعد 48 ساعة.

أما الفرض الثالث فالبرغم من صعوبة إثباته عمليا إلا أنه احتمال لا يمكن تجاهل حدوثه سواء كان الفيروس تكاثرى أو لا تكاثرى.

4-7- السنوك البيولوجي للفيروس الباقي داخل جسم الناقل

The virus inside the vector

4-7-1- الفيروسات التكاثرية Propagative viruses

لوحظت الفيروسات التكاثرية منتشرة في معظم أنسجة الحشرة الناقلة بما فيها القناة الهضمية (مثل فيروس تقزم الأرز داخل نقله من نطاطات الأوراق). وفي حالات أخرى قد يتكاثر الفيروس في بعض الأنسجة ويتواجد في أنسجة أخرى بدون تكاثر. ولقد لوحظت تلك الفيروسات في السيتوبلازم من خلايا الجسم الدهني والمخ والعضلات والقصبات الهوائية والميسوم وكذلك الجلد epidermis والغدد اللعابية والقناة الهضمية للحشرات الناقلة. كما لوحظت فيروسات أخرى في نواة الخلايا مثل فيروس SYVV ونقله *Hypermyzus luctacae*.

4-7-2- الفيروسات اللاتكاثرية Non-propagative viruses

بالنسبة للفيروسات اللاتكاثرية التي ينقلها المن فقد نالها حتى الآن قسط أقل من الدراسة من حيث السلوك البيولوجي للفيروس داخل جسم الحشرة. وعموما فمن الثابت وجود هذه الفيروسات في دم Haemolymph الناقل. وقد شوهدت جزيئات PEMV في سيتوبلازم خلايا الجسم الدهني. كذلك جزيئات BYDV شوهدت في نسيج القناة الهضمية للمن الناقل.

4-8- دلائل تكاثر الفيروس داخل الناقل Evidence for virus multiplication

زيادة عدد جزيئات الفيروس النشط داخل جسم الحشرة بعد إنتهاء فترة تعرضها للاكتساب هي دليل على تكاثره وهذا يمكن الحصول عليه بطرق مختلفة كما يلي:-

4-8-1- طريقة النقل المتتابع للدم: Serial haemolymph transfer

والتي فيها يتم إجراء درجات عالية من التخفيف لدم الحشرة المحتوى على الفيروس عن طريق سحب دم من حشرة معدية وحقنه في حشرة غير حاملة، ثم نقل دم الأخيرة إلى مجموعة متتابعة من الأفراد غير الحاملة للفيروس. وذلك في سلسلة متزايدة من التخفيفات للدم المحتوى على الفيروس. وباختبار فعالية مجموعات الأفراد في السلسلة المتتابعة يمكن الوصول إلى نقطة التخفيف النهائية (Dilution end point) والتي عندها تفقد الحشرة القدرة على نقل الفيروس. أما في حالة ما إذا كان الفيروس يتكاثر داخل جسم الناقل، فإنه لا يظهر حد نهائى للتخفيف. وتفسير ذلك أنه عند تلك التخفيفات يستحيل على الفيروس إحداث العدوي إلا إذا كان له القدرة على التكاثر داخل جسم الحشرة. وقد طبقت تلك الطريقة لإثبات تكاثر فيروس SYVV داخل المن الناقل (تبدأ بنقل دم يحتوى 10

جزئى فيروسى وإنتهى بتخفيف 70 ضعف خلال 6 مجموعات متتابعة من المن غير الحامل للفيروس).

ومن الجدير بالذكر أن استخدام هذا التكنيك يلزمه إحتياطات وقاية عالية لتلافي التلوث والخطأ حتى يمكن الاعتماد على النتائج في تقرير ما إذا كان الفيروس تكاثرى أولا. وذلك كما يلي:

- تغذية الحشرات المحقونة على نبات منبع للفيروس لضمان سلسلة التخفيف وعدم زيادة شحنة الفيروس.
- ضمان الوقت اللازم لاعطاء فرص كافية لإنتقال الفيروس بكميات كبيرة إلى الدم حتى يمكن الحصول عليه عند سحب الدم في بدء التجربة.

4-8-2- إنتقال الفيروس عن طريق البيض من جيل إلى آخر

Transovarial passage of virus from one generation to another

يمكن تتبع عدد من الأجيال المتتالية للفرد الحشرى الحامل للفيروس حتى يمكن الوصول إلى تخفيفات متزايدة من الفيروس، ثم باختبار فعالية الأجيال المتتابعة يمكن بنفس الطريقة السابقة استنتاج ما إذا كان الفيروس يتكاثر داخل جسم الحشرة. وذلك بشرط التغذية على نباتات منبعية للفيروس حتى يقتصر التتابع على شحنة الفيروس الأولية.

ويلاحظ أن انتقال الفيروس عن طريق البيض ليس دليلا في حد ذاته على التكاثر داخل الناقل الحشرى حيث أن تسرب الفيروس إلى أنسجة المبيض مثله كمثل أية أنسجة أخرى للناقل الحشرى قد يتسرب إليها الفيروس. وعلى الرغم من ذلك فإن من الملاحظ فعلا أن ظاهرة إنتقال الفيروس خلال بيض الحشرة مفتشرة بين الفيروسات التكاثرية وتكاد تكون معدومة في الفيروسات اللاتكاثرية. و لذلك فالانتقال للفيروس عن طريق بيض الناقل يكاد يشير الى أن الفيروس تكاثرى.

4-8-3- طريقة زراعة الأنسجة Tissue culture technique

ثبت تكاثر فيروس SYVV داخل المن الناقل عن طريق تلقیح مزارع أولية من خلايا أنسجة الحشرة بوحيدات قليلة من الفيروس ثم تتبع ما إذا زاد تركيز الفيروس مع نمو وزيادة خلايا النسيج المزروع. ويختبر تركيز الفيروس داخل خلايا النسيج بواسطة تكنيك الامصال الدقيق (Fluorescent antibody technique).

4-9- التخصيص في نقل الفيروسات الباقية

تتميز الفيروسات الباقية عموماً بدرجات عالية من التخصص بالنسبة للأنواع الحشرية التي تنقلها. وتظهر أعلى درجات التخصص في الفيروسات التكاثرية والتي تقتصر على نقلها أنواع نطاطات الأوراق ونطاطات النبات وفيما يلي درجات التخصص المختلفة وأمثلة لها:

4-9-1- تخصص النوع:

الذي فيه يتخصص نوع واحد من الحشرة أو نوعان متقاربان أو أكثر في نقل الفيروس الواحد.

CMotV و الناقل حشرة المن *Cavariella aegopodii*

PLRV " " " *Myzus persicae* *Macrosiphum euphorbiae*

4-9-2- التخصص داخل سلالات النوع الواحد من المن: وفيه تتميز سلالة strain معينة من نوع

المن في كفاءتها العالية في نقل الفيروس، فمثلاً سلالتين من المن *Acyrtosiphum pisum* في حين فشلت السلالة الأولى في نقل فيروس البسلة PEMV فإن السلالة الثانية كانت عالية الكفاءة في نقل الفيروس.

4-9-3- التخصص داخل سلالات الفيروس الواحد : وفيه السلالات المختلفة من الفيروس الواحد

virus strains يتخصص في نقل كل منها نوع معين من المن مثال السلالتين MAV & RPV من فيروس الشعير BYDV وجد أن النوع من المن *Rhopalosiphum padi* ينقل بكفاءة عالية السلالة RPV بينما نادراً ما ينقل السلالة MAV في حين أن النوع الآخر من المن *Macrosiphum avenae* له القدرة على نقل كلتا السلالتين بكفاءة عالية.

4-9-4- تفسير الدرجات العالية من التخصص إلى أسباب متعددة

- الاختلاف في طبيعة ودرجة نفاذية جدار القناة الهضمية للناقل وعلاقة ذلك بدرجة نفاذية الفيروسات المختلفة. وبالتالي درجة نجاحها إلى المرور في دورتها داخل جسم الحشرة. إلا أنه بالرغم من تصرب الفيروس إلى معدة عدة أنواع من المن خلال التغذية على نبات مصاب إلا أن الفيروس يتم دورته إلى الدم في نوع الحشرة الناقلة فقط بينما في الأنواع غير الناقلة فالفيروس يمر مباشرة مع إخراج البراز.

- قد يمر الفيروس من جدار القناة الهضمية إلى دم الحشرة وبالرغم من ذلك فلا يستطيع هذا النوع نقل الفيروس إلى النبات السليم وفي هذه الحالة حاجز التخصص يتمثل في الغدد اللعابية للحشرة.

- في حالة الفيروسات التي تعتمد في نقلها على فيروسات أخرى في الحالة المسماء بالنقل المعتمد (Dependant transmission) والتي مباتى ذكرها فيما بعد، فإن التخصص غير المباشر بين الحشرة الناقلة والفيروس المعتمد (Dependent virus) هي محصلة تفاعل interaction بين الفيروس المعتمد والفيروس المساعد (Helper virus) داخل نسيج النبات المصاب بهما.
- ويتضح من ذلك أن هناك نوع من التوافق أو عدم التوافق بين جزئى الفيروس والحاجز المختلفة داخل جسم الحشرة. ويرجع ذلك بصفة خاصة إلى الاختلافات الدقيقة جدا في شكل وتركيب الغلاف البروتينى لجزئى الفيروس (Virus coat protein).

5- الفيروسات غير الباقية Non- Persistent Viruses

- المرحلة المتقدمة من العلاقة بين الفيروس و الحشرة فيها يقل الارتباط الزمنى للفيروس بالحشرة وتوسع دائرة العوامل للفيروس:
- علاقة زمنية قصيرة، حيث زادت درجة كفاءة البقاء للفيروس خارج الحشرة.
 - لا يقتصر فيها نقل الفيروس على أنواع محدودة من الحشرات، بل عديدة.
 - ينقل الفيروس بطرق أخرى بجانب الحشرات
 - للفيروس درجة ثبات عالية خارج النسيج.. ومدى واسع من العوامل النباتية.
- تقتصر الفيروسات غير الباقية في نقلها – على حشرات المن- ويتميز تلك الفيروسات باكتساب الحشرة الناقلة السريع للفيروس وأيضاً فقدانها السريع له. وهذا الارتباط القصير المدى بين الحشرة والفيروس كان سبباً في البداية للإعتقاد بأن النقل يتم عن طريق مجرد تلوث أجزاء الفم أو الجسم بالفيروس أثناء التغذية على النبات المصاب وبفس الصدفة يتمسك الفيروس إلى النبات السليم أثناء التغذية عليه. ومن هنا نشأت فكرة تسمية هذه الفيروسات بالمحمولة على الإبر الفكية -Stylet borne. إلا أن ذلك التعبير الأخير كان يستعمل للاستدلال على أن هذه الفيروسات مجرد تلوث للرمح Stylet – contamination مما أدى إلى تفضيل إستخدام التعبير Non-persistent Viruses خصوصاً بعد التأكد من درجات التخصص بين الفيروس والناقل الحشرى، علاوة على أن بعض الفيروسات النباتية ليس لها نواقل حشرية أو ليس لها علاقات متخصصة مع نواقل حشرية أو غير حشرية. وعلى ذلك فهي مرحلة متقدمة من العلاقة بين الفيروس والحشرة العامل الأولى له.
- والاعتقاد السائد أنه هناك نوع من التوافق (Compatibility) بين جزئى الفيروس وبين مكان الاحتفاظ به بواسطة الناقل site of retention

1-5- خصائص النقل غير الباقي Non- persistent transmission

- يكتسب الفيروس خلال فترة تغذية قصيرة جداً (ثوان - دقائق) أى وخزات قصيرة (Brief probes) لرمح الحشرة داخل نسيج النبات.
- تفقد الحشرة الناقلة الفيروس المكتسب بالإتسلاخ، بحيث أن الفيروس لا يمر خلال الإتسلاخ .ecdysis.
- يلحق الفيروس خلال تغذية تلقیح قصيرة أيضاً
- تحتفظ الحشرة بالفيروس لفترة قصيرة أقصاها ساعة.
- احتفاظ الحشرة بالفيروس يقل كلما تعرضت الحشرة للتغذية عنه إذا ما لم تتغذى، أى أن التجويع بعد الإكتساب Post- acquisition starvation يطول نسبيا من فترة الاحتفاظ بالفيروس. وتفسير ذلك أن التغذية مصحوبة بالفرار للعباب الذى قد يحتوى على مثبطات للفيروس.

2-5- العلاقة بين الفيروس غير الباقي وإختراق رمح المن لنسج النبات:

بالرغم من أن جميع أنواع المن تتشابه عموما في ميكانيكية الإختراق إلا أن هناك بعض الاختلافات الطفيفة نسبيا بين الأنواع والتي قد يكون لها أهمية نوعية في كفاءة نقل الفيروسات. فمثلا بعض أنواع المن يحتوى لعبابها على أنزيم الـ Pectinase، ودرجة توفر هذا الأنزيم لها علاقة بكفاءة إختراق الرمح بين الخلايا النباتية (intercellular) غير الإختراق داخل الخلايا (intracellular) حيث يساعد الأنزيم على إذابة الجدار الوسطى بين الخلايا (middle lamella). وبالرغم من أن جميع أنواع المن تستهدف التغذية على نسيج اللحاء، إلا أن الأنواع المختلفة قد تختلف فيما بينها في الوقت اللازم لتعمق الرمح ووصوله إلى نسيج اللحاء، فيتراوح من دقيقتين إلى 15 دقيقة تغذية.

3-5- علاقة التجويع قبل الإكتساب بكفاءة نقل الفيروسات غير الباقي

- تجويع حشرات المن الناقلة قبل الإكتساب Pre-acquisition starvation يزيد عموما من كفاءة اكتساب ونقل الفيروسات غير الباقي ويعزى ذلك إلى الأسباب الآتية:
- الحشرات بعد التجويع تلجأ إلى إحداث وخزات قصيرة سطحية في النبات brief probes بدون إفرازات لعابية والتي لا يتعدى فيها الرمح نسيج الأبيديرمز .epidermis.
- الفيروسات غير الباقي عموما توجد بتركيزات مناسبة ومتاحة للإكتساب بصفة خاصة في الأنسجة السطحية للنبات.

- حشرات المن عند رفعها من على نبات التغذية المرباه عليه لكي توضع على النبات مصدر الفيروس. فان سحب أجزاء الفم بعد تغذية طويلة يلزم بعده للحشرة بعض الوقت لكي تعيد فيه ترتيب أجزاء الفم في الجراب (الشفة السفلى) في الوضع الصحيح لمعاودة التغذية بحيث يأخذ الرمح الوضع المناسب للثقوب، والتجريع يعطى الحشرة تلك الفرصة وهذا ما يطلق عليه Stylet re- ensheathment.

4-5- نظرية الحاجز اللعابي لإكتساب الفيروسات غير الباقية

Salivary plug concept

- عدم توفر أو إتاحة الفيروس في الخلايا العميقة للنبات ليس تعميما مطلقا بمعنى أن هناك فيروسات غير باقية مثل فيروس موزيك القرعيات (CMV) يمكن للمن الناقل إكتسابه تجريبيا من خلال الميزوفيل العميقة، وقد أمكن إثبات ذلك عمليا بنزع (سلخ) طبقة الـ epidermis قبل تعرض الورقة المصابة لحشرة المن. وعلى ذلك فان ضعف كفاءة نقل الفيروسات غير الباقية عند إطالة التغذية وتعيق الرمح يرجع إلى أحد أو كل الأسباب الآتية:
- إما إنعدام توفر الفيروس في الخلايا العميقة.

- أو تغيير في سلوك التغذية وإفراز اللعاب عند تعمق رمح المن في نسيج النبات مما لا يتوافق مع الفيروس نتيجة الحاجز اللعابي. فكلما تعمق رمح حشرة المن في نسيج النبات زاد إفراز اللعاب الجيلاتيني الذي يتصلب وبالتالي يزداد طول وصلابة الغمد (stylet sheath) وعند سحب الرمح من النسيج تترك الغمد فان حركة السحب تؤدي إلى إزالة الفيروس العالق بالرمح عن طريق الاحتكاك بالغمد المصاحب للرمح (salivary plug). وعلى ذلك فان زيادة تعمق الرمح وتكوين الغمد يزيد من فرصة إزالة الفيروس أثناء الإكتساب، وكذلك قصر بقاء الفيروس عند طول فترة تغذية التلقيح.

5-5- مكان حمل الفيروس غير الباق بواسطة الناقل Virus site of retention

- والمقصود به المكان المتخصص داخل الناقل الحشري والذي يحمل عليه أو عنده الفيروس نتيجة التوافق (Compatibility) بين مكان الاحتفاظ وجزئ الفيروس. وهناك نظريتان لتحديد مكان الاحتفاظ بالفيروس غير الباق.

1-5-5- احتفاظ خارجي External stylet tip

- وهو أن مكان الاحتفاظ بالفيروس هو قمة الرمح الذي يتلوث بالفيروس خلال التغذية القصيرة على نبات مصاب. وإستمدت النظرية في البداية على نتائج الاختبارات الآتية:

• عند معاملة قمة رمح حشرات المن الحاملة للفيروس وذلك بالفورمالدهيد أو الأشعة فوق البنفسجية (U.V) كانت النتيجة ضعف أو إنعدام القدرة على النقل. إلا أنه يجدر عدم تجاهل تأثير هذه المعاملات على الحشرة نفسها فقد لوحظ فعلا أن الحشرات المعاملة تفقد القدرة على التغذية لمدة 15 دقيقة بعد المعاملة.

• حشرات المن *Myzus persicae* تم تخديرها ثم غمس الرمح في أنبوبة شعرية تحتوي على فيروس (CMV) وإستطاعت الحشرات بعد الإفاقة أن تنقل الفيروس بالتغذية على نباتات سليمة إلا أنه يجدر عدم إستبعاد الإكتساب الداخلى للفيروس عن طريق حركة البلعوم اللاإرادية أو عن طريق الخاصة الشعرية حتى أثناء فترة التخدير.

2-5-5- احتفاظ داخلي Internal site of retention

وفيها أن الفيروس يمكن أن يحفظ في حدود المسافة بين قمة الرمح حتى نهاية القناة الهضمية الأمامية (وهي المسافة التي تفقد بالانسلاخ). أى أن الفيروس يصل إلى القناة الهضمية الأمامية ويطلق سراحه منها خلال التغذية على نبات سليم حين تدفع الحشرة بعض السائل المحتوى على الفيروس نتيجة الاجترار (Regurgitation). وقد ثبت حدوث الاجترار في حشرات المن فعلا نتيجة إختبار تغذية حشرات المن على نبات تم تعليمه بمواد مشعة (Labelling with P_{32} radioactive), لقياس مقدار العصير الممتص والمرجع ولوحظ الآتى:

• إكتسبت الحشرة كمية أكبر من الجزيئات المشعة بعد 5 دقائق عنه إذا ما تغذت لفترة 8 دقائق. وعلى ذلك فالفاقد من العصير لا بد وأن يكون مرتجع ثانية إلى النبات.

• بعد 3 دقائق تغذية تلتقيح على النبات، استطاعت الحشرة أن ترجع كمية لا بأس بها من الجزيئات المشعة.

• كمية العصير المرتجعة من الحشرة أكبر من أن يمكن أن يسعها الرمح فقط (على الأقل 10 مرات حجم القناة الغذائية للرمح).

وأستخلص من ذلك أن أغلب المرتجع من العصير جاء من القناة الهضمية الأمامية على أقصى تقدير، ولا يمكن أن يكون من القناة الوسطى لما هو معروف من وجود الصمام المعدى الذى يمنع إرتجاع من المعدة.

وقد يكون مقبولا أن النظريتين لا تتعارضان فقد وجد فعلا بالفحص الالكتروميكروسكوبى جزيئات لبعض الفيروسات غير الباقية على السطح الداخلى للإبر الفكية مثال (Tobacco etch virus

TEV^{TMV}). وفي جميع الأحوال فإنه مهما كان مكان حمل الفيروس فهو مكان متخصص أى يؤكد علاقة توافق بين الفيروس والحشرة وذلك للأسباب الآتية:

- هناك فيروسات نباتية لا تنتقل بالحشرات بالرغم من كفاءتها العالية سواء في إصابة النبات أو الثبات، مثال فيروس (TMV). ولا يمكن تعليل ذلك بشكل جزئى الفيروس فكل من PVY, PVX, TMV يشتركوا في شكل الجزئى الخيطى إلا أن PVY هو الوحيد بينهم الذى ينقل بحشرات المن، أما الآخرين فليس بينهم وبين الحشرات علاقة واضحة.

- وجدت فيروسات في الجهاز الهضمي لحشرات المن *Rhopalosiphum padi*, *Myzus persicae* التى تغتذ على النبات المصاب بالرغم من عدم إمكان الحشرتين نقل الفيروس عند التغذية على نباتات إختبار، فيما يسمى بالمرور غير المتخصص للفيروس (Non-specific passage).

6-الفيروسات نصف الباقية

Semi-Persistent viruses

وتشمل مجموعة من الفيروسات التى تسلك سلوكا وسطا بين الفيروسات الباقية والفيروسات غير الباقية فالفيروس نصف الباق يشابه مع غير الباق في عدم وجود فترة الحضانة للفيروس داخل ناقله الحشرى وكذلك في أن الفيروس يفقد بانسلاخ الحشرة.

ومن ناحية أخرى فيتشابه الفيروس نصف الباق مع الفيروس الباق في أن كفاءة النقل ترتبط بطول فترة تغذية الإكتساب وكذلك فترة التلقيح، بحيث تزداد الكفاءة بزيادة فترة التغذية. كذلك فإن الفيروس نصف الباق يحتفظ به الناقل الحشرى لأكثر من يوم واحد بعد الإكتساب. فالفيروسات نصف الباقية مجموعة غير متجانسة مورفولوجيا تكتسب بواسطة الناقل الحشرى في فترات تغذية تتراوح بين عدة دقائق إلى ساعات وليس خلال اللويزات القصيرة (brief probes).

6-1. خصائص النقل Transmission mechanism

- زيادة فترة الإكتساب أو فترة التلقيح يزيد من كفاءة النقل.
- التجويع يقلل الإكتساب ليس له أثرا على كفاءة إكتساب الفيروس.
- الحشرة للناقلة تفقد الفيروس بمجرد الإسلاخ.
- الفيروس لا ينتقل داخلها إلى ذرية الحشرة الناقل (Transovarial transmission)

6-2- مكان توفر الفيروس في نسيج النبات

- الفيروس نصف الباق يتوفر أساسا في الأنسجة العميقة من النبات (الميزوفيل واللحاء) وبعضها يوجد أيضا في النسيج السطحي epidermis (ويمكن الاستدلال على ذلك بطول فترة الاكتساب). وحيث أن الفيروس لا ينحصر وجوده في النسيج السطحي فقط، فذلك يفسر أهمية تعمق رمح المن وإرتباط كفاءة الاكتساب بطول فترة التغذية.
- بالرغم من توفر الفيروس في النسيج السطحي للنبات فيبدو أن تركيزه لا يكفي بدليل أن الحشرة (المن) لا يمكن أن تكتسب الفيروس خلال الوخزات القصيرة (ويعتبر ذلك إختلاف جوهري بين الفيروس غير الباق ونصف الباق).
- قابلية الفيروس نصف الباق للانتقال بالعصير ترتبط إلى حد ما بمكان وجود الفيروس داخل نسيج النبات. فالفيروسات التي تتوفر في النسيج السطحي مثل فيروس اصفرار اللقت (PYFV) تنقل بالعصير بسهولة، أما تلك التي ينحصر وجودها في الأنسجة العميقة مثل (SBYV) فيروس اصفرار بنجر السكر فلا يمكن نقلها بالعصير أو تنقل بصعوبة بالغة.

6-3- مكان حمل الفيروس نصف الباق بواسطة الناقل:

Virus site of retention

تلك الفيروسات التي يحتفظ بها الناقل ساعات وأيام، من الصعب تصور بقائها لتلك الفترة خارجيا على أجزاء من رمح الحشرة. كذلك لا يمكن قبول احتمال أن الفيروسات نصف الباقية يمكن أن تعيش مدة أطول على الرمح، لأن ذلك كان أولى بالفيروسات غير الباقية ذات القدرة الأعلى على الثبات. وعلى ذلك فإن نظرية العمل الداخلي إلى القناة الهضمية الأمامية (foregut) كانت هي الأكثر قبولا إلى أن شوهدت فعلا جزيئات فيروس نصف باق هو فيروس اصفرار الكرفس (AYV) في تجمعات قرب الجدار الداخلي للقناة الهضمية الأمامية في كتل محددة ومنفصلة عن كتل الغذاء، وذلك عند فحص قطاعات طولية لحشرة المن تحت الإلكترونوميكروسكوب. و يوضح الشكل التالي (النجار 1979) صورة بالميكروسكوب الإلكتروني لقطاع طولي في القناة الهضمية الأمامية لحشرة المن الحاملة للفيروس نصف الباق و تظهر فيها جزيئات الفيروس في وسط جيلاتيني على السطح الداخلي لجدار القناة الهضمية الامامية (foregut) :

Particles in aphids transmitting AYY and PYFV

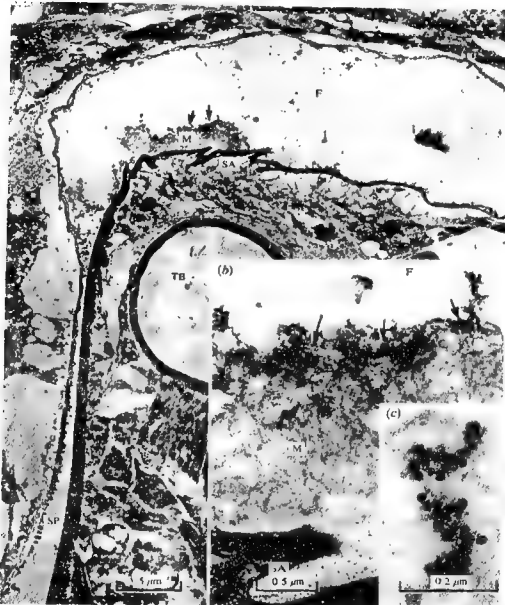


Fig. 2. (a) Dorso-ventral longitudinal section through the anterior alimentary tract of *Cavariella aegopodii* which had fed for 24 h on chervil containing AYY and then for 2 h through a membrane on a purified preparation of PYFV in 10 % sucrose. The section shows the junction of the sucking pump (SP) with the foregut (F) in the region of the tentorial bar (TB). Virus-like particles (arrows) are embedded in a matrix of M-material (M) overlying the spiked area (SA) of the ventral intima of the foregut. Insets (b) and (c) are progressively greater enlargements of the matrix area. In inset (c) the densely staining material surrounding the virus-like particles is clearly visible. (Elmiger *et al* 1979)

7- "النقل المُعتمد للفيروسات بواسطة المن"

"Dependent transmission of aphid-borne viruses"

لوحظت في بعض الفيروسات التي ينقلها المن ظاهرة النقل المعتمد فيما يطلق عليه بالتركيبة الفيروسية المعقدة (Dependent / helper virus complexes). كل تركيب معقد (Virus complex) يشمل على الأقل فيروسان أحدهما الفيروس المعتمد (Dependent virus) وهذا لا يمكن أن ينقله المن إلا في وجود فيروس آخر هو الفيروس المساعد (Helper virus). وعادة يشار

للتكوين Dependent / Helper.

أمثلة للأنظمة الفيروسية في الاعتماد و المساعدة

Dependent / Helper virus complex

مجموعة الفيروسات غير الباقية (non-persistent virus)	فيروس (Y) البطاطس/ فيروس البطاطس (c) (PVC / PVY)
مجموعة الفيروسات غير الباقية (non-persistent virus)	فيروس (Y) البطاطس/ فيروس البطاطس (Acuba) ((PAMV/ PVY
مجموعة الفيروسات النصف الباقية semi-persistent virus مجموعة الفيروسات النصف الباقية semi persistent virus complexes	فيروس اصفر الكرفس/فيروس التبقع الأصفر في اللفت (PYFV / AYV) سلالتين مختلفتين من فيروس موزيك القرنيط CLMV/ CLMV) strains complex)
مجموعة الفيروسات الباقية (persistent virus) مجموعة الفيروسات الباقية (persistent virus)	فيروس احمرار الجذر / فيروس تبقع الجذر Gmotv/CRLV سلالتين مختلفتين من فيروس التقرم الأصفر في الشعير BYDV/BYDV) strains complex)

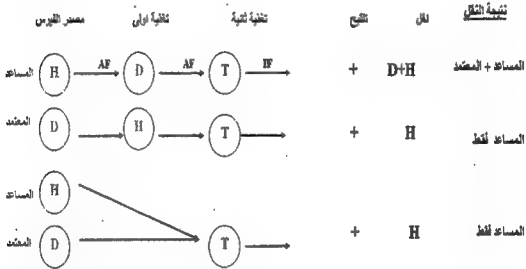
ومن الثابت حتى الآن أن الفيروس المعتمد والفيروس المساعد في أى تركيب كلاهما من نفس النوع من حيث العلاقة بالنقل.

افتراضات لتفسير ظاهرة النقل المعتمد

منذ إكتشاف الظاهرة وضعت لها عدة إقتراحات لتفسير طبيعة النقل بالمساعدة كالآتي:

- وجود الفيروس المساعد في نفس النبات المصدر (source) يحدث تغييرا في توزيع جزيئات الفيروس المعتمد داخل النسيج النباتي بصورة تجعله متاحا للحشرة الناقلة أثناء الإكتساب.
 - أن الفيروس المساعد يعمل على تنشيط تكاثر الفيروس المعتمد داخل نسيج النبات بحيث يصل إلى تركيز متاح للحشرة الناقلة.
 - قد يحدث تغيرات شبيه وراثية للفيروس المعتمد نتيجة مصاحبة الفيروس المساعد له.
- لكن الدراسات المستفيضة الحديثة على التراكيب الفيروسية أوضحت تماما طبيعة النقل فيها وبالتالي قدمت تفسيرات مؤكدة لكيفية المساعدة في كل نوع من التراكيب الفيروسية المعروفة:

مجموعة الفيروسات غير الباقية و نصف الباقية (Non- & Semi-Persistent- Viruses)



تغذية إكتساب AF =

تغذية تلقح IF =

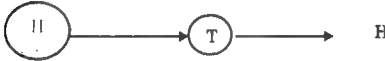
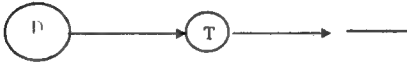
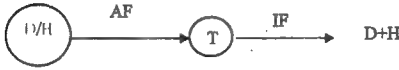
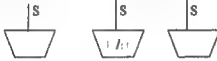
Dependent/Helper

Virus complex

Dependent = D , Helper = H , Source = S , Vector = V

Acquisition feed = Af

, Inoculation feed = If , Indicator = T



مصدر الفيروس

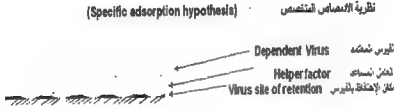
نتيجة النقل (الفيروس)

1-7- طبيعة المساعدة في التركيب الفيروسي غير الباق ونصف الباق

أوضحت التجارب الحقائق الآتية :

- تغذية الإكتساب المتتالية (Sequential- feed) على مصدر للفيروس المساعد يليه مصدر للفيروس المعتمد يمكن بعدها إكتساب الناقل للفيروس المعتمد ونقله.
- التغذية المتتالية على الفيروس المعتمد أولاً يليه الفيروس المساعد ثانياً تؤدي فقط إلى إكتساب وانتقال الفيروس المساعد.
- تعريض نبات الاختبار لمجموعتين من الحشرات أحدهما من مصدر الفيروس المساعد والثانية من مصدر الفيروس المعتمد يؤدي فقط إلى إكتساب وانتقال الفيروس المساعد.

من ذلك يتضح أن طبيعة المساعدة في هذه الحالة تتم خلال مرحلة الإكتساب، وأن الحشرة الناقلة يلزم لها إكتساب الفيروس المساعد أولاً أو شيء ما من مصدره النباتي حتى يكون لها القدرة على إكتساب الفيروس المعتمد (سواء كان ذلك في مصدر مشترك للفيروسات أو في مصدرين منفصلين لهما).



وبالتالي يتم نجاح نقل الفيروس المعتمد بواسطة الحشرة. وهنا نشأت نظرية الإدمصاص المتخصص (Specific adsorption hypothesis)، وهي أن الحشرة بعد تغذيتها على مصدر الفيروس المساعد يحدث بها تحويل أو تهيئة (modification) في المكان المتخصص لحمل الفيروس (site of retention) يؤدي إلى إمكانية الحشرة الإحتفاظ بالفيروس المعتمد عن طريق إدمصاصه إلى المكان المهيأ لذلك. وهنا ظهر رأيان لكيفية تهيئة هذا الإحتفاظ:

- أن الفيروس المعتمد يدمص على سطح الفيروس المساعد الذي بدوره مدمصا إلى المكان المتخصص في الحشرة.
- أن الحشرة في الواقع تكتسب من نسيج النبات المصاب بالفيروس المساعد شيئا ما يسمى بالعامل المساعد (Helper factor agent) يختلف تماما عن جزيئات الفيروس المساعد نفسه وهذا العامل هو المسؤول عن التهيئة. ومن الجدير بالذكر أن تثبيط الفيروس المساعد لا يمنع القدرة على المساعدة (في تجارب المعاملة بالـ UV). وقد تمكن بعض الدارسين من تحضير هذا العامل المساعد وتعرفه بدقة في النبات مصدر الفيروس المساعد.

2-7- طبيعة التركيب الفيروسي الباق Persistent virus- complex

لم تؤدي محاولات التغذية المتتابعة (Sequential feed) إلى مساعدة الفيروس المعتمد على الانتقال بواسطة الناقل كما سبق في الفيروسات غير الباقية. وقد استنتج من جميع المحاولات أنه يلزم وجود الفيروس المساعد مصاحباً للفيروس المعتمد في نفس نسيج النبات المصدر للفيروس حتى يمكن للحشرة أن تكتسب الفيروس المعتمد ونقله بكفاءة.

وقد لُسر ذلك بأن قابلية الفيروس المعتمد للنقل بواسطة الحشرة، تنشأ نتيجة تفاعل بين الفيروس المساعد والفيروس المعتمد أثناء تكاثرهما داخل نسيج النبات. وقد ثبت أيضا أن هذا التفاعل لا يحدث

داخل جسم الناقل الحشري، فقد فشلت المحاولات لنقل الفيروس المعتمد عن طريق حقنه في دم الحشرات الحاملة للفيروس المساعد. وقد يكون ذلك بسبب أن جميع التراكيب الفيروسية الباقية المعروفة للآن لا تتكاثر داخل جسم الناقل الحشري.

وقد وضعت نظرية الخلط المظهري (Heterologous encapsulation) لتفسير الاعتماد والمساعدة في حالة التركيب الفيروسي الباق. وفيها: أن الغلاف البروتيني لجزيء الفيروس هو الذي يحمل خاصية القدرة على الانتقال بالحشرة وأن خلال تكاثر الفيروسان يحدث نوعا من الخلط المظهري (Phenotypic mixing) بحيث أن الحامض النووي للفيروس يتبادل الغلاف البروتيني (Coat protein) للفيروس الآخر أو على الأقل جزء من هذا الغلاف (شكل A).

وعلى ذلك فإن الفيروس المعتمد يكتسب الصفة المظهرية للفيروس المساعد أو جزءا منها مما يهيئ للفيروس المعتمد القابلية للنقل عن طريق الحشرة.

وقد أمكن عمليا إثبات حدوث الخلط المظهري بين التراكيب الفيروسية الباقية عن طريق معاملة مستحضرات فيروسية من نباتات مصابة بالتركيب الفيروسي بإضافة المصل المضاد لأحد الفيروسين ثم إختبار قابلية الناقل الحشري لإكتساب الفيروس عن طريق التغذية من خلال أغشية صناعية ثم إنتقاله إلى دليل نباتي كالأكي:

مستحضر من الفيروس المساعد (Helper (H

مستحضر من الفيروس المعتمد (Dependent (D

مستحضر من التركيب الفيروسي (Dependent / Helper (D/H

ثم إضافة المصل المتخصص إلى المستحضرات المختلفة لإستنتاج الحصول على الصورة المختلطة من الفيروسات:

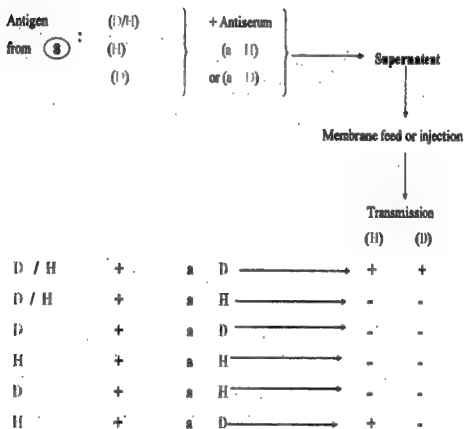
مصل antiserum متخصص للفيروس المساعد (a H)

مصل antiserum متخصص للفيروس المعتمد (a D)

Antigen + Antiserum = Supernatant

ويختبر الناتج ((Supernatant بتغذية حشرات المن الناقلة خلال الأغشية الصناعية (Parafilm membranes)). كما يبينه التسلسل التوضيحي التالي:-

Transmission ←		+ Antigen	
(D)	(H)	antiserum	
+	+	D	D/H
-	-	H	D/H
-	-	H	H
-	-	D	D

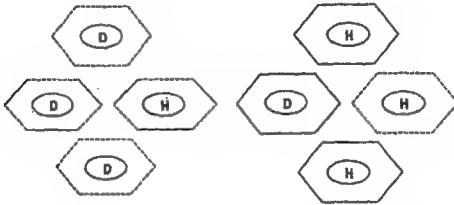


(الخطط المظهري وتبادل الأظفة بين الفيروسات A شكل)

(Heterologous encapsidation)

Persistent D/H Virus Complex

Dependent= D ----- Helper = H -----

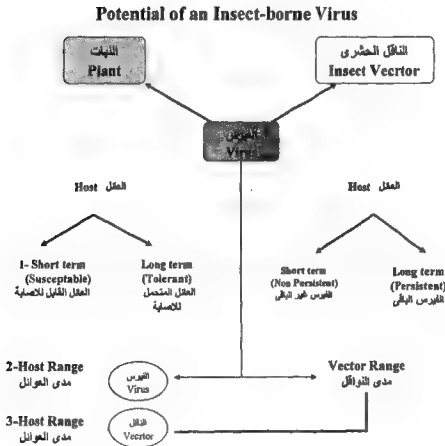
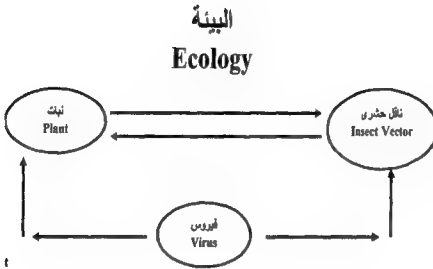


8 - إيكولوجي الفيروسات التي تنقلها الحشرات

Ecology of Insect- Borne Viruses

تنتشر الفيروسات النباتية من مصادرها في الطبيعة، بواسطة الناقل الحشري الذي ينتشر أيضا بين العوائل النباتية تبعاً لظروف ومؤثرات بيئية على طبيعة وإتجاه حركة تلك الحشرات بجانب كثافة العلاقة بين الحشرة والفيروس والنبات، والتي تتمكّن على العوامل المباشرة الآتية:

- المدى العائلي - نوع للعقل
- نوع الإصابة و الانتقال عن طريق البذور
- العوائل البرية المتاحة (مخازن الفيروسات والحشرات)
- تركيز الفيروس في النبات المصاب
- تأثير سلالات الفيروس والإصابة المشتركة وغيرها من علاقات أخرى بيولوجية غير مباشرة.



وعادة يكون إنتشار الفيروس إلى (into) محصول ما بواسطة حشرات مهاجرة إلى هذا المحصول. ثم يلي ذلك إنتشار الفيروس داخل (within) هذا المحصول والذي يفترض أنه يتم بواسطة الإنتشار أو الهجرة المحدودة لتلك الحشرات. وتظهر هذه الصورة بوضوح أكثر في الأنواع الناقلة من حشرات المن وكذلك في حالة الفيروسات غير الباقية ونصف الباقية والتي تلعب فيها شحنة الفيروس دوراً رئيسياً.

وفيما يلي أكثر العوامل أهمية في انتشار الفيروس في البينة:

8-1- سلوك الطيران والهجرة للتناقل الحشرى واختيار الغذاء

وهذا العامل يمثل حركة الحشرة الناقلة وإنتشارها على العوائل النباتية. ويتأثر ذلك السلوك بالمدى العوائلي للحشرة وسلوك إختيار العوائل. ومثال ذلك علاقة سلوك حشرات المن بانتشار الفيروسات، فإن أفراد المن المجنح تتجنب إلى الأوراق الخضراء الطرفية للنباتات بصرف النظر عن نوع النبات، أى أن حشرات المن لا يمكنها تمييز عوائلها النباتية إلا بعد إجراء خزات قصيرة أولية في نسيج النبات (short probes) ثم تتحرك بعدها إلى نباتات أخرى مجاورة، وذلك في طريقها للبحث عن العائل النباتي المفضل. حيث أن حركة حشرات المن تحدث عادة لمسافات قصيرة. وهذا السلوك المميز لحشرات المن هو المميز عن كفاءة إنتشار الفيروسات غير الباقية في الطبيعة للأسباب الآتية:

- ملائمة الخزات القصيرة للسطحية لإكتساب وتلقيح الفيروس.
- زيارة عوائل نباتية كثيرة بما يضمن إنتشار الفيروس على عوائله التي قد لا تكون عوائل للحشرة الناقلة.

8-2- طبيعة العائل النباتي

زيارة الحشرة الناقلة لعائل نباتي من المحاصيل المستديمة في الحقل أى بداية الإصابة في عائل مستديم يضمن مصدر مستمر من الفيروس ينتشر منه بواسطة الناقل. في حين أن بدء الإصابة في عائل حولى (المحاصيل الحولية) يضمن مصدر موسمي من الفيروس إذ ينتهي بانتهاء فترة بقاء المحصول الحولى.



وكذلك حساسية المائل النباتي ودوره كمخزن، في حالة العوائل التي تتحمل الإصابة (Tolerant) تلعب دوراً هاماً في حفظ ونشر الفيروس في البيئة.

3-8- الظروف الجوية والأساليب الزراعية

تؤثر ظروف الجو المختلفة في إحداث تغيرات في سلوك الحشرات الناقلة ومنها ظروف الهجرة القصيرة والطويلة وكذلك تبادل العوائل (كما هو الحال في حشرات المن). وكذلك تلعب الرياح دوراً هاماً في زيادة وإتجاه حركة النواقل الهامة من نطاطات الأوراق والمن. والأساليب العمليات الزراعية دوراً في توفر أو عدم توفر العوائل للحشرات الناقلة وكذلك للفيروسات. كما قد تؤدي أساليب مكافحة عن طريق إزالة المصادر النباتية للفيروس إلى زيادة إنتشار الفيروسات بواسطة النواقل الحشرية.

4-8- قدرة الفيروس على البقاء في الطبيعة Perennality

من الضروري للفيروسات- خصوصاً الفيروسات غير الباقية التي لا ترتبط بالناقل لفترة طويلة من أساليب تضمن بقائها بين الفصول في مخازن من العوائل النباتية لتكون مصادر لإنتشار الفيروس عندما تتوفر النواقل الخاصة به. وتلك المخازن النباتية هي عوائل للفيروس تتحمل الإصابة به (Tolerant) بحيث لا تظهر أى علامات للإصابة به، أو علامات بسيطة لا يتأثر معها المائل تأثيراً ضاراً. ولذلك كانت الحشائش البرية (مستديمة زخرفية) من أهم مخازن الفيروسات، علاوة على العوائل من المحاصيل خصوصاً الأشجار والشجيرات المستديمة. كما تمر بعض الفيروسات عن طريق البذور والجذور والدرنات، أى عن طريق مخلفات المحصول السابق.

5-8- فرصة انتشار الفيروسات المختلفة

يبدو أن الفيروسات غير الباقية قد تحظى بفرضة إنتشار أكبر على عوائلها بواسطة الناقل أما في حالة الفيروسات الباقية فإن فرصة انتشارها تتحدد أساسا بوصول الناقلات الحاملة لها إلى عوائل نباتية ملائمة للحشرة حتى تتوفر ميكانيكية التغذية الطويلة والمناسبة لتلقيح الفيروس وكذلك لإكتسابه بواسطة الحشرات غير الحاملة للفيروس.

إلا أن فترة بقاء الفيروس داخل الحشرة تضيق ميزة تعويضية لإتاحة الفرصة لانتشار الفيروس بواسطة الناقل. وبديهيًا أنه كلما طالت فترة بقاء الفيروس داخل الناقل زادت فرصة إنتشاره في الطبيعة لتصل إلى أعضائها في حالة الفيروسات التكاثرية Propagative.

وتعتبر ظاهرة التراكيب الفيروسية Dependent / helper virus systems مجالًا جديدًا للأخذ في الاعتبار إحتتمالات لمشاكل فيروسية جديدة يمكن أن تظهر وتنتشر إذا ما أستجد في بيئة الفيروس المعتمد (Dependent) فيروسًا مساعدًا أو العكس. أي أنه من المحتمل أن يكون هناك عاملًا يربط بين أي أو كلا من فيروس معتمد (Dependent virus)، وفيروس مساعد (Helper virus)، وحشرة ناقلة (Insect vector). وعموما فإن الفيروس المعتمد من النوع غير الباق يمتنع أيضا بفرضة لانتشار في البيئة لا بأس بها بواسطة الحشرة الناقلة خصوصا أن دور الفيروس المساعد في التراكيب غير الباقية لا يتعد مرحلة الإكتساب، كما أنه ليس بالضرورة تواجد الفيروس المساعد مصاحبًا للفيروس المعتمد في نفس النبات.

وقد تبدو الصورة مختلفة بالنسبة لفرصة انتشار الفيروس المعتمد في حالة التراكيب الفيروسية الباقية، إذ يلزم تلازم كلا من الفيروس المعتمد والفيروس المساعد في نفس العائل النباتي المصدر للفيروس (Virus source plant) كشرط لنجاح الإكتساب (Acquisition) للفيروس المعتمد، إلا أن ذلك يعوضه طول فترة بقاء الفيروس داخل الناقل. ومن المحتمل أن تزيد فرصة الانتشار إذا ما كانت هناك تراكيب فيروسية تكاثرية.

٥- أساليب مكافحة انتشار الفيروسات التي تنقلها الحشرات

تعد تلك الأساليب أساسا على طرق مضمونها قطع السلسلة الطبيعية لتعاقب بقاء الفيروس في البيئة، وهي طرق وقائية بالدرجة الأولى لأن الشفاء من الفيروس نادر؛
التخلص من المخازن الطبيعية للفيروسات في البيئة وذلك بإزالة المتكاملة للعوائل البرية والنباتات المصابة بعد التأكد من خلوها من الحشرات الناقلة.

- استعمال الصوب الزجاجية الكبيرة لإنتاج نباتات الاكثار تحت ظروف وقائية تسمح بسهولة استبدال النباتات والحصول على تقاوى نظيفة.

- برامج متكاملة لإكثار تقاوى خالية تماما من الفيروسات ذات الكفاءة العالية على البقاء والإنتشار في البيئة:

بعض الفيروسات ذات قدرة إنتشار فائقة قد تؤدي إلى القضاء تماما على محصول ما يصعب معها التأكد من خلو نباتات الاكثار من الفيروس. وفي هذه الحالة توضع برامج متكاملة لإنتاج نباتات إكثار نظيفة تماما ومعتمدة. ولضمان ذلك تبدأ تلك البرامج عن طريق عمليات زراعة الأنسجة من تلك النباتات (Tissue culture) . ومثال ذلك:

برنامج إنتقاء الخس للحد من فيروس موزيك الخس.. والبرنامج المتكامل لإنتقاء تقاوى البطاطس للحد من فيروسات البطاطس.

ولا شك أن الأمر يزداد صعوبة في حالة المحاصيل المستديمة التي يصعب إستبدالها مرات عديدة في حالة إصابتها بالفيروس مثل إصابة أشجار الموالح بـ *citrus tristiza*.

9-1- إجراءات لمكافحة الحشرة الناقلة أو الوقائية منها

- إجراءات مكافحة كيميائية في الأوقات المناسبة لوقاية المحاصيل من الناقلات الحشرية المهاجرة، ويلزم معها دراسات بيئية لتحديد الوقت المناسب والحد الحرج من تلك الأعداد.

- قد يفيد استعمال انعكاسات ضوئية في الحقول، والتي ثبت لها تأثير طارد لأفواج حشرات المن المهاجرة.

- قد يفيد استعمال بعض الزيوت المعدنية الخاصة لرش العوائل النباتية مما يبرقل كفاءة الحشرة في إكتساب أو تلقيح الفيروس. وتظهر أهمية ذلك الإجراء في حالة المحاصيل المستديمة.

9-2- إجراءات الحجر الزراعي الجيد

وذلك سواء لحماية مناطق الاكثار أو عموما للحفاظ على الحواجز البيئية (Ecological barriers) الطبيعية بين الفيروسات والعوائل النباتية والحشرات الناقلة.

10- الناقلات الحشرية الهامة

بالرغم من وجود ناقلات للفيروس من التريبس والذباب الأبيض والبق الدقيقي، والنيوماتودا إلا أن أهم ناقلات فيروسات التبقعات هي أنواع حشرات المن وكذلك نطاطات الأوراق ونطاطات النبات.

وتعتبر حشرات المن أكبر مجموعة من الحشرات الناقلة وذلك من حيث إرتباطها بأعداد كبيرة من الفيروسات الهامة وتنوع العلاقة البيولوجية بين الناقل والفيروس.

1-10-1- المن Aphids

تم حتى الآن وصف أكثر من 3800 نوع من المن. جميعها حشرات صغيرة رقيقة الجسم تتغذى على عصير النباتات السكرى وتفرز الندوة العسلية وليس لها أنابيب ملببجي.

من أهم المعلومات في تصنيف وتعريف حشرات المن هو عدد الكروموسومات وترتيبها. ويتراوح عدد الكروموسومات في أنواع المن بين 4، 40 وأكثرها شيوعا 8، 10، 12، 14 (في أزواج). وهناك حالات نادرة يزيد فيها عدد الكروموسومات عن 20 زوجا، ومن الجدير بالذكر أيضا إمكانية التصنيف على مستوى النوع والسلالة عن طريق ما يسمى بالبصمة الوراثية (finger print) من خلال البيولوجيا الجزيئية.

هناك أكثر من 300 نوع من المن معروفة حتى الآن كناقلات لفيروسات النباتات. وقد بنقل النوع الواحد أكثر من فيروس واحد فالنوع *Myzus persicae* مثلا ناقل لحوالي 120 مرض فيروسى.

1-10-1- عادات الطيران والهجرة في حشرات المن

- من أهم المعلومات عن الحشرات الناقلة هو سلوك الهجرة والانتشار وعلاقة ذلك بنشر الفيروس.
- تميل أفراد المن المجنح إلى الطيران ومغادرة العائل الذى قضت عليه أطوارها غير الكاملة، وذلك بمجرد الوصول للطور الكامل. وهذا السلوك يساعد المن على الانتشار على العوائل النباتية المختلفة حتى الحولية منها ذات فترة النمو القصير.
- حجم تعداد المن Population يتغير فجائيا وبسرعة نظرا للكفاءة التكاثرية العالية وعادات الهجرة والطيران والعوامل البيئية والزراعية المؤثرة في ذلك.
- في عائلة Aphididae التى تشمل كثير من الأنواع الهامة فإن عضلات الأجنحة تضمحل بعد أيام قليلة من خروج الحشرة الكاملة.
- يسرع المن في الطيران عند توفر ظروف إضاءة وحرارة مناسبة وهناك حد أدنى حرج لكل من هذه الظروف. ومن ناحية أخرى فقد تحمل أفراد المن بواسطة الرياح لمسافات طويلة تبلغ مئات الكيلومترات.

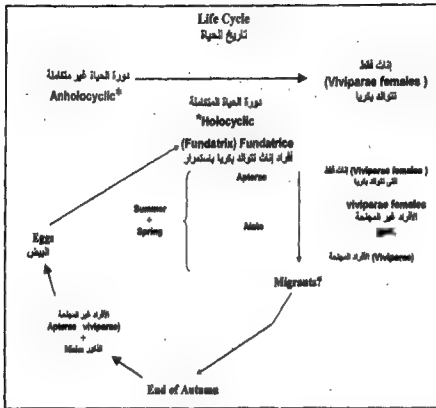
• بجانب الهجرة طويلة المدى (لمسافات طويلة) فهناك في نفس الوقت هجرة قصيرة المدى حيث تطير المراد لمسافات قصيرة. وعلى ذلك تنتشر الأفراد الناقلة من مصادر نباتية للفيروس إلى عوائل نباتية على مسافات مختلفة. وقد تختلف نسبة الهجرة طويلة المدى إلى قصيرة المدى باختلاف الأنواع من المن.

• من ذلك السلوك في الهجرة فإنه نادرا ما يوجد في حشرات المن ما يسمى بالسلاسل المحلية أو السلاسل الجغرافية. فالسلاسل من المن هي أنماط بيولوجية داخل النوع الواحد تختلف في درجة تلصيقها للعوائل النباتية وكذلك في درجة كفاءتها لنقل الفيروس.

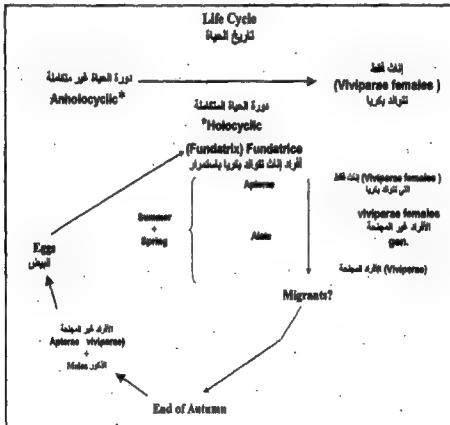
10-1-2- اعتبارات بيولوجية خاصة في حشرات المن

دورة حياة حشرات المن :

• دورة الحياة المتكاملة (Holocyclic) هي التي يظهر فيها طور البيضة الذي يقضى فترة الشتاء في حالة سكون. في الربيع يفقس البيض ليخرج منه افراد (Fundatrix) وهي إناث تتوالد بكريا باستمرار Viviparous females وهي غالبا غير مجنحة وأحيانا مجنحة حسب نوع المن والظروف البيئية. وغالبا ما يسود إنتاج الأفراد غير المجنحة (Apteræ viviparæ) التوالد لمدة جيل أو جيلين ، بعدها يبدأ إنتاج الأفراد المجنحة (alate Viviparæ) (تبعاً لظروف البيئة والغذاء). ويستمر



التكاثر البكرى حتى الخريف حين يبدأ ظهور الذكور والإناث المعده للإخصاب (Apterous oviparous female)، وتلك تضع البيض الذي يمضى فترة الشتاء.



• دورة الحياة غير متكاملة Anholocyclic

في بعض أنواع المن أو تحت ظروف البيئة المعتدلة المناخ تظهر إناث فقط (Viviparae female) التي تتوالد بكريا باستمرار دون حدوث أى تكاثر جنسى أو ظهور طور البيضة.

• تبادل العوائل Host alternation

10% تقريبا من أنواع المن تتبادل العوائل بصورة منتظمة فتقضى فترة الشتاء على عوائل أولية (Primary hosts) تمضى عليها طور البيضة، ثم عوائل ثانوية (Secondary host) تتواجد عليها أجيال المن التي تتوالد بكريا في الصيف. ثم في الخريف تظهر بعض الذكور التي تهاجر مع الإناث إلى العائل الأولى، وتتلاقح وتضع الإناث البيض. وفي حالات أخرى تنتج الذكور على العائل الأولى من الإناث المهاجرة. ويسمى المن المتبادل العوائل (Heteroecious aphid) لتمييزه عن الأنواع التي تقضى طول السنة على عائل واحد (Monoecious aphid). ويلاحظ عند تربية الأنواع المتبادلة العوائل تحت الظروف المعملية أنه يجب تزويدها بفترات إضاءة إضافية في ظروف النهار القصير حتى لا تتكون الأفراد التتاسلية المهاجرة.

• الأفراد المتكزمة Summer dwarf

تحت ظروف الحرارة العالية في الصيف تظهر بعض أفراد المن في صورة متكزمة وتسمى (Summer dwarf)، تلك الأفراد تقل كفاءتها التتاسلية عن الأفراد العادية علاوة على غياب أو خلل في بعض صفاتها المورفولوجية الهامة مثل شعر الجسم والألوان التي تميزها تقسيميا. هذا وقد تؤدي الحرارة العالية إلى أن بعض أنواع المن تقضى فترة من السكون (Diapause) خلال الصيف على هيئة حورية عمر أول.

وعموما فإن النمو غير الطبيعي لأفراد المن يحدث خلافا في العمليات الفسيولوجية وقد يؤدي إلى تغيرات هامة مثل حدوث خلل في حاجز القناة الهضمية (Gut barrier) والذي يلعب دورا هاما في الأنواع الناقلة للفيروس، بحيث تتأثر القدرة على نقل الفيروس.

10-3-1 - العائل النهائي لحشرات المن

حشرات المن بشكل عام يطلق عليها شديدة التخصص من حيث إختيار العوائل:

يلعب المدى العوائلى (host range) دورا هاما في تعريف أنواع المن. كثير من الأنواع على درجة من التخصص على عائله النباتي بينما القليل له مدى عوائلى واسع. ويصل التخصص إلى مستوى النوع النباتي أو الجنس (مثل من الرمان).

- بعض أنواع المن تفضل المستعمرات المتجمعة أو الكثيفة على جزء ما من النبات وأنواع أخرى تنتشر على كل أجزاء النبات، كما أن بعض الأنواع تقضي بعض الأجيال على جذور عوائلها النباتية (مثل من النجيليات).
- لعاب المن قد يكون ساما للنبات العائل محدثا بعض الأعراض مثل التجدع أو تغير اللون (Discoloration)، والتي تتشابه مع أعراض الإصابة بالفيروس.

11- حقائق مشتركة في كل العلاقة القائمة في فيرولوجيا

الحشرات

- أن الفيروسات التي ترتبط بالحشرات صوما سواء كانت فيروسات نبات أو حيوان أو حشرات فإن خط سير الفيروس الرئيسي هو عن طريق الفم و القناة الهضمية للحشرة (Gut barrier).
- يلعب جدار القناة الهضمية دورا ملحوظا كحاجز متخصص (Specific barrier) في إنتقال الفيروسات إلى الدم. و يبدو أنه لا يتأثر حتى بإصابة الحشرة بالفيروس.
- أن ملاحظة إرتباط فيروس ما بالحشرة يرجع أساسا لحدوث حالات مرضية أو موت لعوائل الفيروس سواء نباتية أو حيوانية أو الحشرة ذاتها. إلا أن وجود علاقة لا تؤدي إلى حدوث تلك الظواهر إحتمال قائم.
- يجب الأخذ في الإعتبار أن بعض الفيروسات التي تصيب الفقاريات يمكنها التكاثر بدرجة ملحوظة في حشرات ليست عوائل أو نواقل لها و ذلك بدون حدوث أى ظواهر مرضية تلفت النظر إليها.
- و هنا نصل إلى أهمية الاحاطة بالصورة الكبرى للفيروسات في البيئة (Viruses in the environment)

اذ ان اعتماد الفيروس في الإنتشار على الحشرة - و كلاهما قديم العلاقة - يتطور الى تألق الفيروس على عوائل أخرى جديدة بل و أنماط مختلفة من العوائل و تظل دائما احتمالات مستقبلية لتألق الفيروسات على أنواع و أنماط جديدة من العوائل في البيئة و ذلك نتيجة لنشاط الفيروس المميز في أنه أول مهندس وراثي طبيعي بين الكائنات على الأرض .

أ.د. صلاح الدين النجار

(References) المراجع

- ***Insect virology***

by Kenneth M. Smith (1967). Academic press

- ***Virus Insect Relationships***

(by Kenneht Manley Smith (1977

- ***Advances in Virus Research***

by Karl Maramorosch (1986)

- ***The Insect Viruses (The Viruses)***

by Lois K. Miller and L. Andrew Ball (Kindle Edition - (1998)

- ***Virus-Insect-Plant Interactions***

by Kerry F. Harris, Oney P. Smith, and James E. Duffus
(2001)

- ***Introduction to Modern Virology***

.(by Nigel Dimmock, Andrew Easton, and Keith Leppard (2007

الفيروسات والحشرات

الفيروس جزئى بروتينى معقد له نشاط حيوى ممرض فى البيئة. من خلال علاقات معقدة.

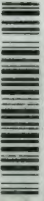
فالفيروسات فى بيئة الإنسان تمثل قدرا من التنوع البيولوجى (Biodiversity) يفوق كل ما هو موجود من تنوع داخل المملكة الحيوانية والنباتية مجتمعة. وهذا فى الواقع نتيجة لنجاح الفيروسات فى التطفل على جميع الكائنات الحية المعروفة.

وهذا التنوع الكبير بين الفيروسات هو المفتاح للتعرف على العلاقات المتداخلة بين الفيروسات و عوائلها المختلفة من الكائنات الحية. ويمثل علم فيرولوجى الحشرات حلقة بينية توضح عبور الفيروس بين انماط مختلفة من العوائل النباتية والحيوانية:-

و الحشرات مجموعة كبيرة من الكائنات الحية من ناحية الكم والتنوع، فان ثلاثة أرباع المملكة الحيوانية (Animal Kingdom) من صف الحشرات (Class: Insecta). والحشرات قديمة التواجد على الأرض ، حيث تشير الحفريات الى قدم يصل الى أكثر من 200 مليون سنة (فى حين أن عمر الإنسان نفسه لم يصل الى مليون سنة). كذلك فإن الفيروسات يصل قدمها الى 170 مليون سنة على الأقل. و ترتبط الحشرات بمجال واسع من تنوعه والتي منها مايسبب أمراضا للحيوانات الفقارية واللافقاريات للنباتات.

ومن المعتقد أن الحشرات إكتسبت الفيروسات المرتبطة بحيث أن جميع الفيروسات المرتبطة بالحشرات هى فى الواقع واحد النشأة.

Bibliotheca Alexandrina



1195166

004205 دراسة فيروس الدولى



البيانات والحشرات



طباعة - نشر - توزيع

١٤٤ ش طيبة - سبورتنج - الإسكندرية ت : ٠٥٨ - ٢٠٥٩٢ - ٢٠٥٩٢ ف : ٠٥٨ - ٢٠٥٩٢ - ٢٠٥٩٢



Email: horus.alex2007@yahoo.com

horus.alex@hotmail.com